Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster
(Direktor: Prof. Dr. F. H. Kemper)

TOXIZITÄT UND EMBRYOTOXIZITÄT EINIGER DIALKYLZINN-VERBINDUNGEN AM MODELL DES HOHNERKOKENS UNTER BESONDERER BEROCKSICHTIGUNG DER WIRKUNG AUF DIE PRIMÄR LYMPHATISCHEN ORGANE

I N A U G U R A L - D I S S E R T A T I O N

zur

Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Medizinischen Fakultät der
Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster

vorgelegt von
Thomas Schürmeyer
aus Gelsenkirchen

1982

Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster
(Direktor: Prof. Dr. F. H. Kemper)

TOXIZITÄT UND EMBRYOTOXIZITÄT EINIGER DIALKYLZINN-VERBINDUNGEN AM MODELL DES HÜHNERKÜKENS UNTER BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG DER WIRKUNG AUF DIE PRIMÄR LYMPHATISCHEN ORGANE

I N A U G U R A L - D I S S E R T A T I O N

zur

Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Medizinischen Fakultät der
Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster

vorgelegt von
Thomas Schürmeyer
aus Gelsenkirchen

1982

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

Dekan: Prof. Dr. H.J. Küchle

1. Berichterstatter: Prof. Dr. F.H. Kemper

2. Berichterstatter: Prof Dr. H. Themann

Tag der Promotion: 12. November 1982

Noch bißher haben sie nit gewißt/ was Zinn sey/ wz das sey/ das in jhm fleußt/ was jhm die farben geb vnd dergleichen/ diese ding haben sie all noch nie tractiert/ vnd wollen Doctores vnd Philosophi sein?

(Theophrastus von Hohenheim,
genannt PARACELSUS – 1589)

Inhaltsverzeichnis

A: *Einführung in die Thematik und Literaturübersicht*

1. *EINLEITUNG*

Mit der Herstellung des als typisch "organisch" betrachteten Harnstoffes durch den Chemiker WÖHLER im Jahre 1828 begann eine neue Epoche der Chemie. Bis heute gelang es nicht nur, einen großen Teil der durch die Beziehung zu tierischen und pflanzlichen Organismen "organischen" Verbindungen zu synthetisieren, sondern auch neue, "künstliche" organische Kohlenstoffverbindungen zu schaffen. So wurde die ehedem so scharfe Grenze zwischen "organischer" und "anorganischer" Chemie immer mehr zu einer eher praktischen, denn sachlichen Trennlinie, in deren Übergangsbereich sich auch das Gebiet der "organischen" Verbindungen der eigentlich "anorganischen" Metalle und in diesem das Teilgebiet der Organozinn-Chemie ansiedeln läßt.

Die Suche nach neuen "Kunststoffen", deren Beginn um die Jahrhundertwende liegt, begründete nicht nur das Gebiet der Kunststoffchemie und rief die Entwicklung neuer Technologien hervor, sondern hatte neben den aus der heutigen Medizin nicht mehr wegzudenkenden Folgen auch ungeahnte gesellschaftliche Konsequenzen, was angesichts der Tatsache, daß die allgemeine Verwendung von Kunststoffen heute in der gleichen Größenordnung der bis dahin gebräuchlichen Produktionsgrundstoffe wie Stahl, Holz und Glas liegt, nicht erstaunlich bleibt.

Ausgehend von der Menge des heute verwandten Kunststoffes und der Vielfalt der Berührungspunkte zwischen ihm und dem Menschen, ist eine kritische Betrachtung der Kunststoffe und der in ihnen enthaltenen Zusatzstoffe aus medizinischer und hierbei besonders toxikologischer Sicht von großer Bedeutung.

Organozinn-Verbindungen, die zu den wichtigsten Zusatzstoffen in Kunststoffen gehören, und besonders ihre Wirkungen auf lymphatische Organe, sind das Objekt der hier beschriebenen Untersuchungen.

Vor der Darlegung der Versuche und der gefundenen Ergebnisse sollen die Chemie der Organozinn-Verbindungen, soweit sie die medizinische Seite der Beurteilung berührt (siehe 2.), die

geschichtliche Entwicklung der Organozinn-Chemie und -Toxikologie (siehe 3.), die Anwendung der Organozinn-Verbindungen (siehe 4.) und ihre bereits bekannten pharmakologisch-toxikologischen Eigenschaften kurz beschrieben werden (siehe 5.).

2. *CHEMIE DER ORGANOZINN-VERBINDUNGEN*

2.1.

Zinn, das Element der Ordnungszahl 50, gehört in die Gruppe IVa des Periodensystems, die weiterhin außer Kohlenstoff (C), dem Grundstein lebender Materie und Silizium (Si), das aufgrund der besonderen Eigenschaften der Sila-Pharmaka in der Pharmakologie eine eigene Bedeutung hat, noch die Elemente Germanium (Ge) und Blei (Pb) enthält, deren bioziden Eigenschaften seit langem bekannt sind.

Das Verhalten der vier Valenzelektronen des Zinnes ähnelt dem des Kohlenstoffes mit der bekannten sp^3-Hybridisierung, so daß die vier möglichen Substituenten des Zinnes auch eine tetraedrische Anordnung annehmen (39,193,378).
Organozinn-Verbindungen sind Substanzen, die mindestens eine direkte Sn-C-Verbindung enthalten, die in ihrem kovalenten Charakter einer C-C-Verbindung ähnelt, so daß sie, wie auch die anderen organometallischen Verbindungen der Gruppe IVa, relativ stabil ist und eine verhältnismäßig niedrige chemische Reaktivität besitzt (39,193,235,236,378,435).

Da in der Gruppe mit ansteigendem Atomgewicht die Tendenz, den divalenten Status beizubehalten, wächst, gibt es auch verschiedene, zumeist relativ unstabile organische Verbindungen divalenten Zinnes, zu denen auch die erste 1852 von LÖWIG präparierte organozinn-Verbindung, das Diäthylzinn, gehörte (18,39,193). Die meisten Organozinn-Verbindungen haben jedoch ein 4-valentes Zinnatom und somit die Struktur

$$R_{(n)}Sn\ X_{(4-n)}\ ,$$

wobei R einen Alkyl- und X einen Säurerest (z.B. Halogen, -OH, -OR', -SH, -SR', -OOCR' $-OSnR'_3$, $-NR'_2$ etc.) darstellt (18,39,103, 193,378).
Im Molekül, das dadurch auffällt, daß das Metall zwei verschiedene Bindungsarten gleichzeitig tätigt - die Ionenbildungen mit den Säureresten einerseits und die kovalenten Bindungen mit den Alkylresten andererseits - ist der stabile Alkylzinn-Anteil nach BÜRGER (50), als ein gemischt "organisch-anorganisches Kation" anzusehen, das z. B. bei Dialkylzinn-Salzen zweiwertig ist (60,142,435,464). Aus dem Gesagten geht hervor, daß von R_4 Sn nach $RSnX_3$ mit zunehmender Anzahl der Säurereste die Löslichkeit der Verbindungen in organischen Lösungsmitteln ab - und in Wasser zunimmt.
Eine Ausnahme bilden die Dialkylzinn-Oxide, da sie als polymer strukturierte Stoffe unlöslich sind (39,395).
Bei den Dialkylzinn-Dichloriden, die hier untersucht werden, ist der Schmelzpunkt um so tiefer, je höher-molekular der Alkylrest ist (367).

Unter toxikologischen Gesichtspunkten dürfen nicht nur die zu untersuchenden Verbindungen selbst getestet werden, sondern es ist auch von Interesse, ob z. B. bei der Herstellung Nebenprodukte auftreten und wie die Substanz abgebaut wird.

2.2.

Es gibt verschiedene Verfahren zur Herstellung von Organozinn-Verbindungen (39,71,103,105,144,197,198,235,236,258,294,344). Neben der Direktsynthese der Organozinn-Verbindungen (aus Sn + RCl) (80,103,236,378,394,430,432,484), die der kürzeste Weg ist und hauptsächlich in Japan Anwendung findet, aber den Nachteil hat, daß durch sie nur die Herstellung von Alkylzinn-Halogeniden möglich ist, gibt es verschiedene Wege der Organozinn-Herstellung, die alle gemeinsam haben, daß sie ausgehend vom $SnCl_4$ zunächst zur Herstellung der Tetraorganozinne führen, aus denen erst in einer Austauschreaktion, einem nachfolgenden Disproportionierungs-Verfahren, die gewünschten Mono-, Di- oder Triorganozinn-Verbindungen gewonnen werden, wobei es aber auch immer zu einer Verunreinigung durch die jeweils korrespondierenden Verbindungen kommt, wie das tragische Ereignis der französischen Stalinon-Affaire zeigte (siehe 6.5.3.).

So beschrieben FIGGE und FINDEISS 1974 (117) z. B. das Auftreten folgender Verunreinigungen bei der Herstellung einer Di-n-octylzinn-Verbindung:
0,4 % Monooctyl-Zinn, 0,2 % Tri-n-octyl-Zinn, 1 % Di-i-octyl-Zinn.

Zu den bekanntesten Herstellungsverfahren gehören das GRIGNARD-Verfahren ($SnCl_4$ + GRIGNARD-Verbindung (RMgCl)) (auch als zyklischer Prozeß, ausgehend von Dialkylzinn-Halogeniden)(80, 229,236,291,341,360,378,382,430), das WURTZ-Verfahren (Na + RCl + SnCl) (236,385,386) und das Aluminium-Alkyl-Verfahren ($SnCl_4$ + Trialkylaluminium + NaCl) (80,204,255,348,430).
Auch einige weitere Verfahren sind in der Literatur beschrieben: (Mg_2 Sn + R Br (230); RCl + NaSn (38,236); Mg_2Sn + RCl (80, 114,236); NaSnZn + R Hal (377); R_2Hg + Sn Hal_4 (103,343); Umwandlung aus korrespondierenden Organoblei-Verbindungen (259, 260) und andere (103)).

2.3.

Verschiedene Untersuchungen (39,83,113,249) zeigen, daß Tetraalkylzinn-Verbindungen durch Lebermikrosomen zu Trialkylzinn-Verbindungen metabolisiert werden, die in vivo recht stabil sind, aber auch langsam zu anorganischem Zinn abgebaut werden. Die Triorganozinn-Verbindungen werden um so langsamer abgebaut, je länger die organischen Reste sind. Zu ihrem hepatischen Abbau sind NADPH und enzymatische Systeme notwendig (69). Es ist aber auch eine spontane Dekompensation von Tributyl- zu Dibutyl-Zinn unter UV-Licht (39,111) und eine Umwandlung von Triäthyl- in Diäthyl-Zinn unter starkem Licht bekannt (8).

Beim enzymatischen Abbau entsteht nach CASIDA zunächst ein säurelabiler Trialkylzinn-Metabolit, der wahrscheinlich einen C-1-hydroxylierten Alkylsubstituenten besitzt und in saurem Milieu zur korrespondierenden Dialkylzinn-Verbindung als Hauptabbauprodukt dekompensiert (69).

Ähnlich kann diese zum korrespondierenden Monoorganozinn dekompensieren und weiter zum anorganischen Zinn, das letztes, aber auch völlig untoxisches Zerfallsprodukt ist (18,69,378).

Der jeweils abgespaltene Kohlenstoff bleibt hauptsächlich als Alkohol übrig (69).

Nach BRIDGES (46) wird Diäthylzinn in der Ratte zu Monoäthylzinn und einem unidentifizierten Kohlenstofffragment, das nicht zu CO_2 oxidiert wird, abgebaut. Der Abbau schreitet aber nicht fort zum anorganischen Zinn.

MEINEMA beschrieb den Umbau von Dibutylzinn-Verbindungen zu Butylmethylzinn-Verbindungen (320).

Wie SEIDLER 1971 zeigte, ist die Bindung zwischen Alkylrest und Zinn viel fester als die zwischen Zinn und dem Säurerest, denn das Hauptspaltprodukt eines Dioctylzinn-Thioglycolsäure-Esters waren das Dioctylzinn-Dichlorid und der Ester-Säurerest (416,417). Auch er nimmt an, daß beide im Organismus weiter abgebaut werden. Die Sn-S-Bindung schwefelhaltiger Organozinn-Verbindungen ist durch alkalische Lösungen spaltbar (378).

3. *TABELLE ZUR GESCHICHTLICHEN ENTWICKLUNG DER ORGANOZINN-FORSCHUNG*

1852	LÖWIG synthetisiert die erste Organozinn-Verbindung FRANKLAND bemerkt Toxizität derselben bei ihrer Synthese
1858	BUCKTON beobachtet nasal irritierende und Kopfschmerzen hervorrufende Wirkung von Triäthylzinn-Chlorid
1869	JOLYET und CAHOUR beschreiben toxikologisch unterschiedliches Verhalten von Diäthylzinn, Tetraäthylzinn-Chlorid und Tetraäthylzinn.
1881	WHITE untersucht die im Gegensatz zu den anorganischen Zinnsalzen hohe Toxizität von Triäthylzinn an Hunden, Kaninchen und Fröschen (493)
1886	UNGAR und BODLÄNDER berichten über tierexperimentelle Toxizität einiger Organozinn-Verbindungen
1929	HARTMANN und Mitarbeiter entdecken Anwendungsmöglichkeiten des Tetraphenylzinn und Triäthylzinn-Fluoride als Mottenschutzmittel (Patent der IG-Farben zur entomologischen Anwendung derselben)
1932	Die erste industrielle Anwendung von Organozinn-Verbindungen als Stabilisatoren von Transformatoren-Ölen (Tetraalkylzinn-Verbindungen) wird beschrieben
1936	Aufgrund der von YNGVE entdeckten hervorragenden stabilisierenden Wirkung auf PVC erlangen die Organozinne technisches Interesse
1943	Verschiedene Organozinn-Verbindungen werden als toxische Zusätze in Antifouling-Farben patentiert

1948 Die Organozinn-Produktion beträgt wenige hundert Kilogramm (235,294)

seit ca. 1950 Die bioziden Eigenschaften der Organozinn-Verbindungen werden systematisch untersucht

1952 KERR entdeckt anthelminthische Eigenschaften von Dibutylzinn-Dilaurat (237,238)

1953 Die "Stalinon-Affaire" in Frankreich (siehe 6.5.3.) fordert mehr als 100 Tote. Es folgen umfangreiche Untersuchungen bzgl. der Toxizität besonders der Trialkyl- und Dialkylzinn-Verbindungen

1955 Die Organozinn-Produktion zur PVC-Stabilisierung beträgt einige hundert Tonnen (39,235). Es sind etwa 500 Organozinn-Verbindungen bekannt, deren Zahl sich in den folgenden fünf Jahren verdoppelt (235,294).

1958 a) HUECK und LUIJTEN entdecken die Wirksamkeit von Organozinn-Verbindungen im Textilschutz
b) Mit Hilfe der Organozinn-Verbindungen gelingt die Herstellung von Urethanschäumen direkt aus den Basisprodukten
c) BARNES und STONER zeigen, daß die toxische Wirkung der Dialkylzinn-Verbindungen causal in einer Hemmung der α-Ketosäure-Oxidase liegt

1960 MEYLER (328) macht auf mögliche cardiotoxische Wirkungen von organozinnhaltigem PVC aufmerksam

1962 Die Organozinnproduktion von 3 000 t nimmt mit 0,5 % am Weltzinnverbrauch teil (294).

1969 Die Organozinnproduktion beträgt bereits 14 000 t (Wert: 300 Mio. DM) (294).

1970 CREMER weist eine selektive Hemmung der Glukose-Oxidation durch Triäthylzinn nach (83)

1971 SEIDLER (416/417) findet eine selektive Anreicherung von Dioctylzinn-Dichlorid in Thymus und Hypophyse der Ratte

1973 Von den 10 größten Herstellern von Organozinn-Verbindungen wird unter Federführung des TRI (Tin Research Institute), London, ein Forschungsprogramm "ORTEP" (Organo-tin-environmental project) über das Verhalten von Organozinn-Verbindungen in der Umwelt begonnen, das bei TNO in Utrecht durchgeführt wird (228,434)

1976 SEINEN berichtet über spezifische Wirkung von Organozinn-Dichloriden auf das lymphatische Gewebe der Ratte (420).

Zur Zeit erscheinen pro Jahr einige hundert Veröffentlichungen auf dem Organozinngebiet und es existiert eine umfangreiche Patentliteratur.

4. ANWENDUNGSGEBIETE DER ORGANOZINN-VERBINDUNGEN

4.1. ANWENDUNGSGEBIETE DER MONOORGANOZINN-VERBINDUNGEN

Monoorganozinn-Verbindungen haben neben ihrer Anwendbarkeit als Härter für Epoxidharze vor allem als zusätzliche Stabilisatoren für PVC ein größeres Anwendungsgebiet gefunden, da sie die Wirksamkeit der Diorganozinn-Stabilisatoren erhöhen und aufgrund ihrer niedrigen Toxizität auch bei der Herstellung von Lebensmittelverpackungen zugelassen sind (z. B. Butyl-Thiostannonsäure) (39,59,117,228,235,320,434).
Vorgeschlagen wurden Monoorganozinn-Verbindungen auch zur wasserfesten Imprägnierung von Papier, Textilien und Steinwänden (228).

4.2. ANWENDUNGSGEBIETE DER DIORGANOZINN-VERBINDUNGEN

4.2.1.

Trotz der umfangreichen Anwendungsmöglichkeiten haben nicht Triorganozinn-Verbindungen, sondern Diorganozinn-Verbindungen, von denen einige in dieser Arbeit untersucht wurden, das größte Anwendungsgebiet unter den Organozinn-Verbindungen gefunden. Auch sie bieten vielfältige Anwendungsmöglichkeiten z. B. aufgrund ihrer katalysatorischen Eigenschaften in verschiedenen Produktionsverfahren der Kunststoffindustrie oder aufgrund ihrer anthelminthischen Verwendbarkeit in der Veterinärmedizin.

Am meisten jedoch werden Diorganozinn-Verbindungen als Stabilisatoren in Kunststoffen verwendet (39,193). 70 % der Organozinn-Weltproduktion, die am Ende der 60-er Jahre weit über 10 000 Tonnen/Jahr betrug und deren Zuwachs mit Steigerung der Kunststoffproduktion parallel geht, werden in diesem Sektor eingesetzt (39,294).

Erst in den 40-er Jahren wurde dieses alle anderen Anwendungsgebiete überragende Einsatzgebiet besonders auch durch die Arbeiten von YNGVE und QUATTEBAUM, welche die Dibutylzinn-Verbindungen als beste Stabilisatoren unter den Organozinn-Verbindungen entdeckten, erschlossen (1940: Patent der Carbid + Carbon-Chemicals bzgl. Tetraorganozinn-Verbindungen als PVC-Stabilisatoren (193)).

Heute zeigt besonders die Anwendung der ungiftigeren Dioctylzinn-Verbindungen bei der Herstellung von Lebensmittelverpackungen eine wachsende Bedeutung.

4.2.2.
Unter Kunststoffen versteht man durch Voll- oder Teilsynthese gewonnene hochmolekulare organische Produkte, d. h. einerseits abgewandelte Naturstoffe wie Kautschuk- oder Cellulose-Derivate (Gummi, Celluloid, Cellophan, Kunstseide etc.), andererseits vollsynthetisierte Verbindungen wie Polymerisate, welche zumeist auf der Basis von Vinyl-Verbindungen hergestellt werden (PVC, Polyäthylen, Polyacrylsäure etc.), Polykondensate (Buna, Neopren, Polystyrol, Plexiglas, Perlon, Teflon, Hostaflon, Polyamide, Polyester, Silicone etc.) und Polyaddukte (Polyurethan, Epoxyharze) (353).

Unter den Kunststoffen hat PVC wegen seiner günstigen Eigenschaften bzgl. der Gas- und Wasser-Durchlässigkeit eine besondere Rolle (127) und, gemessen an der Menge seiner Produktion, liegt es an erster Stelle von allen Kunststoffarten (353). Einer der großen Vorteile des PVCs ist seine geringe Toxizität. Bei jahrelangen Fütterungsversuchen an Hunden und Ratten eines an Monomeren armen Gemisches fanden sich, wie FRANZEN berichtet, keinerlei Anzeichen einer toxischen Wirkung (127,161). Bei der Verarbeitung des PVCs jedoch kann es zu Verunreinigungen kommen und immer ist der Zusatz verschiedener Chemikalien mit speziellen Funktionen notwendig, welche meist niedermolekular sind und auswandern können, so daß mögliche toxische Wirkungen durch sie nicht ausgeschlossen werden können (41,127).

Es besteht beispielsweise die Möglichkeit, daß Monomere, welche oft ausgesprochene Allergene sind, zu geringen Gewichtsanteilen zurückbleiben (353) und je nach Mengenanteil wegen ihres spezifischen onkogenen Potentials eine besondere Gefährdung darstellen, wie dies für Vinylchlorid erkannt wurde. Neben der durch Mischpolymerisation erreichten "inneren Weichmachung", werden in einigen Kunststoffen noch "äußere" Weichmacher benötigt, wie z. B. in dem zur Herstellung von Weichfolien, Schläuchen, Kunstleder und Treibriemen verwandten Weich-PVC. 60 % der angewandten Weichmacher sind Phthalate; Hart-PVC ist weichmacherfrei (353).

Antioxydantien (z. B. Hydrochinon) werden Kunststoffen, die in-

folge ungesättigter Reste O_2-empfindlich sind (z. B. Kautschuk) zugesetzt. Antistatika (wie Zinkchlorid) verhindern die elektrische Aufladung der Kunststoffe.
Weitere Kunststoffadditive wären Schutzkolloide, Entschäumer, Suspensions- und Lösungsmittel, Haftstoffe (z. B. für Beschichtungen), Treibmittel, optische Aufheller, Farbstoffe und Konservierungsstoffe.

Katalysatoren und Akzeleratoren sind in den Produkten meist nicht mehr enthalten, da sie verbraucht werden und besitzen somit toxikologische Bedeutung nur für die bei der Verarbeitung und Herstellung der Kunststoffe Beschäftigten.
Als Emulgatoren werden beispielsweise Aryl- und Alkylsulfonate verwandt und als Gleitmittel, die den Kunststoffen zwecks einwandfreier Verarbeitbarkeit zugesetzt werden, dienen zumeist toxikologisch unbedenklichere Stoffe wie Amide, Ester und Salze höherer Fettsäuren oder Polyäthylen. Es muß aber berücksichtigt werden, daß naturgemäß sich gerade diese Stoffe an der Oberfläche der Kunststoffe anreichern und zumeist in fetthaltigen Füllgütern löslich sind (127,353).

Stabilisatoren gehören zu den wichtigsten Zusatzstoffen in Kunststoffen und werden zur Erhöhung der Altersbeständigkeit und der Stabilität bei der Verarbeitung bis zu 2 % bezogen auf das Gesamtgewicht zugesetzt, um schädliche Einflüsse durch Licht, Wärme oder Sauerstoff, die die Stabilität der Kunststoffe ungünstig beeinflussen, zu verhindern (353).

Gerade auch PVC ist relativ instabil und tendiert dazu, beim Erhitzen auf höhere Temperaturen, ca. ab 100^{0} C, unter HCl-Verlust, abzubauen, was schnell zu einer Qualitätsminderung des Kunststoffes führt.

Hinzu kommt, daß PVC als Rohmaterial in der Form eines weißen Pulvers vorliegt, welches zur Umformung zu den gewünschten Gebrauchsgütern bis auf $175\text{-}200^{0}$ C., der Fusionstemperatur, erhitzt werden muß. Da die zur PVC-Verflüssigung notwendige Temperatur aber bei weitem die des thermischen Abbaues erreicht, sind Stabilisatoren unerläßliche Zusatzstoffe in der PVC-Produktion und die Organozinn-Verbindungen besitzen hier außerordentlich günstige Eigenschaften. So konnte eine kommerzielle Anwendung des PVCs so lange nicht verwirklicht werden, bis neben anderen notwendigen Zusatzstoffen auch geeignete Stabilisatoren zum PVC-"Processing" entwickelt worden waren (39,117,254,375,403).

Als Stabilisatoren werden viele unterschiedliche Stoffe benutzt, angefangen vom harmlosen Natriumcarbonat bis zu den von OETTEL

als unter toxikologischen Gesichtspunkten "höchst suspekt" betrachteten Cadmium- und Bleiverbindungen (353).

Betrachtet man die Stabilisierung der Kunststoffe gegen Lichteinflüsse, so könnte auch als einfachster "Stabilisator" Pigment (Ruß) in die Gruppe der Stabilisatoren gefaßt werden (353). Vom Bundesgesundheitsamt Berlin (bga) als unbedenklich erklärt (59,127,478) wurden Diphenylthioharnstoff, Phenylindol, epoxidierte Soja- und Rizinusöle, Magnesium- und Zinkstearate, sowie Calciumstearat und ähnliche Verbindungen, die, obwohl sie nicht zu den besten Stabilisatoren zählen, dort eingesetzt werden, wo nur nicht-toxische Stoffe verwandt werden dürfen, also z. B. in der Nahrungsmittelverpackung, wo ebenfalls Aminocrotonsäureester ihre Anwendung als Stabilisatoren finden (z. B. in Margarine- und Pralinenverpackungen) (127,254,403).

Vom bga genehmigt wurden auch einige Dioctyl- und Dimethylzinn-Verbindungen und Monobutyl-Thiostannonsäuren, während Cadmium-, Blei-, Barium- und Strontium-Verbindungen wie in anderen europäischen Ländern abgelehnt wurden, da sie zu toxisch sind (59, 127,252,254,403,478). Ausnahmeregelungen gelten für den Einsatz von Blei-Verbindungen in Wasserrohren (478).

4.2.3.

Die Organozinn-Verbindungen verleihen den Produkten aus Weich- oder Hart-PVC außergewöhnliche Klarheit, haben selbst eine sehr gute Lichtstabilität und liefern bei allen Verarbeitungsverfahren höchste Dauerbetriebssicherheit (15,46,71,74,106,117, 127,174,193,234,236,301,320,326,364,381,390,408,445,515).
Sie werden dort eingesetzt, wo besondere Anforderungen an Hitzestabilität und Transparenz gestellt und wo die höchsten Prozeßtemperaturen erforderlich sind. So erhält man die besten Ergebnisse bei der Herstellung von harten, nicht-plastischen Vinylen mit Diorganozinn-Verbindungen. Im Hochtemperaturverfahren, wie auch bei der Herstellung spezieller Folien, ist ihr Einsatz unerläßlich (127,403). Organozinn-Verbindungen sind mit den Kunststoffen, in denen sie enthalten sind, gut verträglich und ergeben klare, durchsichtige Produkte, während man mit anderen Stabilisatoren gewöhnlich undurchsichtige Kunststoffe erhält.
Die Organozinn-Verbindungen stabilisieren für die längste Zeitperiode und werden nicht wie andere Stabilisatoren dunkel, sobald sie ihre Kraft als Stabilisatoren verloren haben, sondern bewirken höchstens eine leichte graduelle Verfärbung nach der anfänglichen Stabilisationsperiode. Ferner erzeugen die Diorganozinn-

Verbindungen im Gegensatz zu anderen Stabilisatoren, mit den in PVC sehr oft enthaltenen Schwefelverbindungen keine farbigen Sulfid-Derivate, was als weiterer Vorteil der Organozinn-Verbindungen zu sehen ist (403). Der größte Nachteil der Organozinn-Verbindungen sind ihre hohen Kosten. Es gibt ca. 1 000 Patente bzgl. der Anwendung von Organozinn-Verbindungen als Kunststoff-Stabilisatoren, unter denen nach PIVER (375) 1973 aber nur elf kommerzielle Bedeutung gewonnen haben. Zu diesen zählt auch das hier mituntersuchte Dioctylzinn-Maleinat (Handelsname: Thermolite 813, Mark OTS, Estabex U-18), das Anwendung in der Herstellung von Flaschen, Filmen, Folien und sonstigen Verpackungen mit Nahrungsmittelkontakt findet.

Jedes der Diorganozinn-Derivate hat als Stabilisator spezielle Eigenschaften bei den verschiedenen Produktionsschritten. Daher enthält das endgültige Produkt normalerweise nicht nur einen einzigen, sondern eine Mischung mehrerer Stabilisatoren. Am effektivsten sind Dibutylzinn-Derivate, welche bei der Herstellung von Hart-PVC-Leitungen, -Isolierungen, -Flaschen etc. eingesetzt werden. Die Dioctylzinn-Verbindungen wurden speziell für PVC, das in Kontakt mit Nahrungsmitteln kommt, entwickelt (375). Relativ neu ist die Anwendung von Dimethylzinn-Stabilisatoren (228).

Handelsnamen von als Stabilisatoren eingesetzten Diorganozinn-Verbindungen sind beispielsweise:

Advastab (Cincinnati Milacron;
Kingsley and Keith Chemicals Ltd.;
Deutsche Advance Produktion GmbH,)
Cardinal Clear (Cardinal Chemicals Co.)
Estabex (Novadel Ltd.;
Oxydo Ges. für chem. Produkte mbH;
Noury & van der Lande N.V.)
Irgastab (Ciba Geigy)
Mark (Lankro Chemicals Ltd.;
S.A. Argus Chemical N.V.)
Mellite (Albright & Wilson (Mfg.) Ltd.;
Kautschuk-Gesellschaft mbH)
Naftovin (Kautschuk-GmbH / Metallgesellschaft AG)
Niax (Union Carbid Chem.)
Stanclere (Pure Chemicals Ltd.)
Stannofix (Polytitan)
Stavinor (Société des Usines Chimiques)
Thermolite (Metal & Thermit Chemicals Inc.)

Eine ausführliche Übersicht über einige hundert gehandelte PVC-Stabilisatoren, darunter auch viele Organozinn-Stabilisatoren, gibt VOIGT (478).

Vergleicht man die angewandten Organozinn-Verbindungen nach ihrem Säurerest, so lassen sich vier Gruppen unterscheiden.

In der ersten finden sich die ältesten angewandten Stabilisatoren: die Fettsäurederivate, Alkoholate und Phenolate der Dialkylzinn-Oxide (z.B. Dibutylzinn-Dilaurat). Die zweite umfaßt die Dialkylzinn-Maleate, die eher eine polymere als zyklische Struktur haben und hervorragende Stabilisatoren sind.
Die beste Hitzestabilität bei etwas schlechterer Lichtstabilität verleihen die Diorganozinn-Verbindungen der dritten Gruppe, die eine Zinn-Schwefel-Bindung enthalten, z.B. Mercaptide oder polymere Sulfide, und die Dialkylzinn-Halogenide nehmen als Spaltprodukt aller Diorganozinn-Verbindungen eine besondere Rolle ein und stellen die vierte Gruppe dar.
Kaum eine Bedeutung haben Organozinn-Borate, -Phosphate, -Sulfonamide, -Thiocarbonate, -Dithiocarbonate, -Xanthogenate und andere mögliche Organozinn-Derivate als Kunststoffstabilisatoren (478).

Zu dem Problem, wie Organozinn-Verbindungen wirken, worauf ihre stabilisierende Wirkung beruht, wurden verschiedene Theorien aufgestellt.

Normalerweise liegt PVC nicht rein in der Struktur

$$- CH_2 - CHCl -$$

vor, sondern ist verzweigt mit der Struktur

$$- CHCl - CH_2 - \overset{*}{C}Cl \begin{matrix} \diagup CH_2 - \\ \diagdown CH_2 - \end{matrix}$$

oder enthält ungesättigte Doppelbindungen zwischen benachbarten Kohlenstoffatomen der Struktur

$$- CHCl - CH = \overset{*}{C}Cl -$$

In beiden Fällen kommt es zur Bildung labiler C-Cl-Gruppierungen (*) und sowohl die allylische wie auch die verzweigten PVC-Strukturen neigen zur HCl-Freisetzung.

Hat diese PVC-Dekompensation an einer Stelle des Moleküls begonnen, so tendiert sie dazu, aufgrund der Allylaktivierung benachbarter Bindungen, reißverschlußartig unter fortschreitendem HCl-Verlust längs der gesamten Molekülkette weiterzulaufen. Die fortschreitende HCl-Liberation ist für die Verfärbung des PVCs verantwortlich, da es durch sie zur Bildung konjugierter Polyenstrukturen kommt, die an ihrer gelblichen bis schwarzen Verfärbung erkennbar sind.

Eine Wichtige Rolle, da sie zur Verschlechterung der mechanischen Eigenschaften des PVCs führt, spielt die Oxidation der Doppelbindungen unter Bildung von β-Cl-Ketobindungen und die Vernetzung der Molekülketten durch die entstehenden freien Radikale.

Einem ähnlichen Abbau unterliegt PVC durch die Einwirkung von Licht (39,375,403,498).

Nach INGHAM sollten Stabilisatoren folgende Eigenschaften haben: Sie sollten die HCl-Abspaltung verhindert oder das gebildete HCl absorbieren, als Antioxidantien wirken, dienophil sein, d.h. mit Doppelbindungen reagieren und einen Schutz gegen UV-Strahlung darstellen. Die Organozinn-Verbindungen kommen hierbei den Erfordernissen eines idealen Stabilisators am nächsten (193,364).

Die Verhinderung der Verfärbung des PVCs bei erhöhter Temperatur und unter Lichteinwirkung, d.h. die stabilisierende Wirkung der Organozinn-Verbindungen, wird durch verschiedene Autoren unterschiedlich erklärt. Nach INGHAM gibt es Hinweise darauf, daß die Organozinn-Verbindungen eher durch die Verhinderung der Farbbildung, als auf die der HCl-Freisetzung wirken und färbende Polyengruppen zerstören (193). MACK (39, 302,303,304) nimmt an, daß ein guter Stabilisator auch antioxidative Wirkung haben müsse um Polyene vor der Oxidation zu Carbonylen zu schützen. Diese präventive antioxidative Wirkung beruht nach WIRTH (498) auf einer Zerstörung von Hydroperoxiden (COOH- Gruppen) durch die Organozinn-Stabilisatoren.

Nach FRYE, HORST, POLIOBAGIS und anderen (39,139,403,430, 478) ersetzen die Organozinn-Verbindungen die labilen Chloride des PVC durch ihre Säurereste, so daß die Tendenz des Kunststoffes zum Übergang in ein Polyensystem reduziert wird und die Organozinn-Verbindungen, die das

Chloratom aufnehmen, selbst zu Dialkylzinn-Halogeniden werden, eine Tatsache, die durch verschiedene Untersuchungen bestätigt wurde (117,498).

MARKS (309) beobachtete diese HCl-Absorption durch den Stabilisator und stellte fest, daß sich der Stabilisator hierbei zum Dialkylzinn-Halogenid in der Form beispielsweise des $(Bu_2\ Sn\ Cl_4)^{2-}$ umwandelt. Entstehende Organozinn-Halogenide sollen durch die Komplexierung von Allyl-Gruppen noch eine zusätzliche hemmende Wirkung auf die fortschreitende HCl-Freisetzung haben (498).

Von den Dialkylzinn-Maleinaten ist bekannt, daß der Maleinsäurerest möglicherweise durch eine kovalente Bindung an das Polymer gebunden chromophore Strukturen (Diene und isolierte Doppelbindungen) beseitigt und auch die Dehydrochlorierungsreaktion hemmt (378,478,494). Die Organozinn-Maleate schützen besonders vor der Verfärbung des Kunststoffes im Sonnenlicht (378,498), während die Organozinn-Mercaptide eher Thermostabilisatoren sind.

Auch KENYON (227) und ähnlich WINKLER (193) nehmen an, daß die Organozinn-Verbindungen neben ihrer Wirkund als HCl-Auffänger durch die Anlagerung der Alkylreste an das Polymer noch eine Wirkung als "Ketten-Reparierer" haben. Neueste Untersuchungen von FIGGE und FINDEISS (117) zeigen, daß Dioctylzinn als Stabilisator schon bei einem Zusatz von 0,05 Gewichts-%, einen beachtlichen Stabilisationseffekt hat und daß durch einen Zusatz von 0,5 Gewichts-% Dioctylzinn die niedrigste HCl-Abspaltungsrate erreicht wird, die auch durch weiteren Stabilisatorzusatz nicht zu erniedrigen ist. Möglicherweise beruht diese Tatsache auf einer Umwandlung aller Startstellen einer Dehydrochlorierung im PVC in thermisch stabilere Strukturen. Wie die Wirkung der Organozinn-Verbindungen auch verlaufen mag, so steht doch die Tatsache fest, daß sie bei der Hitze- und Lichtstabilisierung von Kunststoffen in ihrer Wirksamkeit und Qualität von keinen anderen Stabilisatoren übertroffen werden und bei der Herstellung farbloser Folien, Platten und Formstücke aus Hart-PVC unentbehrliche Zusätze sind (Z.B. glasklare Wellplatten für die Bauindustrie, Plastikflaschen, Einwegverpackungen etc.) (94,294,416,417), wobei Variationen in der Wirksamkeit hauptsächlich von der Struktur der Säurereste abhängen (478,498).

Neben PVC werden viele andere voll- und teilsynthetisierte Kunststoffe durch Diorganozinn stabilisiert. Von den verschiedenen

Autoren werden halogenierte und nicht-halogenierte Stoffe unterschiedlichster Struktur genannt (21,69,139,183,193,378,381,404, 478):

Polyvinyliden-Chlorid, mit chlorierten Substanzen modifizierte Polymere, Paraffine, Cellulose-Acetat, Polyamid, Polyäthylen, Polypropylen und andere Polyolefine, Polycarbonat, Teflon, Nylon, Poly-(Phenylenoxid) und Organo-Silicone.

Besonders auf der antioxydativen Wirkung der Organozinn-Verbindungen beruht ihr Einsatz als "anti-cracking"-Substanzen in Gummimaterialien und Farben zum Schutz z.B. gegen Ozon oder andere Gummi-zerstörende Einflüsse (18,75,193,375,403); auch machen sie pflanzliche Öle gegen Temperatureinflüsse resistenter (478). Aus medizinischer Sicht ist besonders beachtenswert, daß Kunststoffe, aus denen die flexiblen Leitungen von Transfusions-Sets und andere in der Medizin Verwendung findende Gebrauchsgegenstände gefertigt sind, Organozinn-Verbindungen als Stabelisatoren enthalten (21,248).

Hierdurch und durch das in den letzten Jahren gewachsene Interesse, PVC auch in der lebensmittel-verpackenden Industrie einzusetzen, stellt sich das Problem der Toxizität der Organozinne und somit der möglichen Gesundheitsgefährdung durch diese Substanzgruppe (378,403).

Da sich die stabilisierende Wirkung der Dialkylzinn-Verbindungen durch den Zusatz eines bestimmten Prozentsatzes an Monoorganozinn erheblich verbessern läßt, müssen auch die Monoorganozinn-Verbindungen in Oberlegungen toxikologischer Art einbezogen werden (34).

Auch bestimmte Metallseifen sollen die Wirksamkeit der Organozinnstabilisatoren erhöhen (478). In einigen Ländern wurde bereits die Anwendung bestimmter Dialkylzinn-Verbindungen für den Nahrungsmittelsektor genehmigt. So ist in Deutschland die Verwendung von Dioctylzinn-Verbindungen von Laurin-, Malein-, und Thioglycolsäureestern unter bestimmten Bedingungen erlaubt (59) und in anderen europäischen Ländern bestehen ähnliche Regelungen (403).

Ebenfalls besteht der Vorschlag zu diesem Anwendungszweck neben Dimethylzinn-Stabilisatoren auch Dibenzylzinn-Verbindungen zuzulassen (297,478).

4.2.4.

1941 berichteten GUTHRIE (158-160) und andere über die anthelminthische Aktivität einiger Zinnverbindungen in der Geflügelzucht (1,15,24,46,160,174,490) und 1951 untersuchte KERR ausführlich diese Wirkung bei Dibutylzinn-Dilaurat, für das er den Namen "Butynorate" prägte und fand, daß diese Substanz schon in der Dosierung von 75 mg/kg effektiv, aber noch bei 500 mg/kg für die Hühner völlig untoxisch ist und im Gegensatz zu einigen anderen Anthelminthika auch nicht zu einer Beeinflussung der Eierproduktion führt (237-239,241). Eine von KERR und WALDE 1956 durchgeführte systematische Untersuchung von 112 Organozinn-Verbindungen auf ihre Wirksamkeit als Anthelminthika an Hühnern zeigt, daß die Verbindung des Typs R_2 Sn X_2 die größte anthelminthische Aktivität besitzen, besonders wenn sowohl R als auch X relativ einfacher chemischer Struktur sind (239-241).

Aber nicht nur Wurmkrankheiten, sondern auch durch Protozoen und andere Parasiten hervorgerufene Krankheiten werden durch Dibutylzinn-Dilaurat und andere Dialkylzinn-Verbindungen, so auch durch Dibutylzinn-Dichlorid und Dioctylzinn-Dichlorid (72, 149,169,239,412) gut bekämpft, präventiv und curativ, und zwar nicht nur bei Vögeln, sondern auch bei Schafen und Schweinen. "Hypolin", eine Mischung aus Dibutylzinn-Dilaurat, Phenothiazin und Hexachloroäthan, wird auch bei Rindern eingesetzt. Nematoden sind den Organozinn-Verbindungen gegenüber weniger empfindlich als Cestoden (18,21,71,94,139,193,239,294,375,378,384). Als Wirkweise wird für Dioctylzinn-Dichlorid eine mögliche Blockade des "Antidiastase-Systems" des Wurmes durch das Organozinn-Kation diskutiert (72,149).
GRAS (149) gibt einen ausführlichen Überblick über die Anwendung verschiedener Zinn-Verbindungen als Anthelminthika in der Medizin.

4.2.5.

Neben den beiden genannten Anwendungsbereichen als Stabilisatoren und Anthelminthica spielt der Einsatz von Diorganozinn-Verbindungen noch eine wichtige Rolle bei der großtechnischen Katalysation verschiedener chemischer Reaktionsabläufe.

Nach PIVER (375) machen die Diorganozinn-Verbindungen das Kohlenstoffatom anfällig gegen elektrophile Angriffe und werden

so z.B. bei Veresterungsreaktionen, aber auch bei der Polymerisation von Lactonen, Pyrrolidonen, Glycolsäuren und Weichmachern eingesetzt. Ihr Nachteil, recht teuer zu sein, wird hierbei durch die Vorteile katalysatorischer Effizienz, geringer Tendenz zur H_2O-Freisetzung und somit zur Bildung ungesättigter Bindungen, sowie durch die Eignung zur Produktion farbloser Ester aufgewogen. Weiterhin hinterlassen sie weder saure noch basische Rückstände in den synthetisierten Stoffen und ihre Anwesenheit verbessert oft die physikalischen und elektrischen Eigenschaften und die Hitzestabilität derselben (10,18,65,193,375,378,383,403).

Besondere Bedeutung haben die Diorganozinn-Verbindungen auch in der Polyurethanschaum-Herstellung, denn erst durch ihren Einsatz als Katalysatoren gelang 1958 die Entwicklung eines Systems, das die Herstellung der Polyurethanschäume direkt aus den Ausgangssubstanzen erlaubte (18,39,193,294,375,378,403,445). Hierbei eingesetzt werden neben Dibutylzinn-Diacetat, -Dilaurat und -Dilaurylmercaptid auch das in der vorliegenden Arbeit geprüfte Dimethylzinn-Dichlorid und das Dibutylzinn-Dichlorid (375).

"Silicon-curing" erfolgt normalerweise bei höheren Temperaturen. Durch den Einsatz von Organozinn-Stabilisatoren, wie Dibutylzinn- und Dioctylzinn-Dilaurat und -Maleinat läßt sich die Härtung von Silikonkautschuk aber schon bei Raumtemperatur ausführen, wobei die Organozinn-Verbindungen den Produkten auch eine hohe Oxidationsbeständigkeit verleihen (18,20,39,193,294,359,375,378,403).

Dieses Raumtemperatur-Verfahren findet vielseitige Anwendung z.B. bei der Herstellung von dentalen Abdrücken in der Zahnmedizin, bei der Einkapselung elektronischer Teile und beim Zusatz von Silikon zu Textilien und Papier (18,375,403).

Bei der Aushärtung von Epoxiharzen werden Diorganozinn-Verbindungen eingesetzt, um eine Verzögerung der Reaktion nach Zusatz des Härters zu steuern (378,403).

4.2.6.
Schon erwähnt wurde der Einsatz von Organozinn-Verbindungen als Antioxidantien und Stabilisatoren in Gummi und bestimmten Farben (75,174,301,325,326,468). So werden in Großbritannien Latex-Farben verkauft, die mit Organozinn-Verbindungen stabilisiert sind (39,193,403).

Bei einem japanischen Verfahren zu Glasoberflächenvergütung wird Dimethylzinn-Dichlorid in dampfförmigem Zustand über die heiße Glasoberfläche geleitet, wobei es unter Bildung einer dünnen transparenten SnO_2-Schicht zerfällt, die die Kratzfestigkeit und Chemikalienbeständigkeit der Glasoberfläche erhöht und sie elektrisch leitend macht (39,454).

Dimethylzinn und Dibutylzinn werden als Schmiermittel-Additive verwandt, die unter Bildung eines nicht-korrosiven Filmes auf mechanisch beanspruchten Oberflächen in Verbrennungsmotoren bereits in sehr geringen Konzentrationen den Verschleiß vermindern. Sie werden besonders in Hochleistungs-Zweitakt-Motoren (Motorsägen, Außenbordmotoren) eingesetzt, sind gut verträglich mit anderen Schmiermittelbestandteilen und erhöhen sogar die Wirkung von Antioxidantien. Ihre Effektivität steigt mit der Konzentration und der Härte der beanspruchten Oberflächen (6,16,39,316,383, 404).
Manchen Kunststoffen werden auch Organozinn-Verbindungen zugesetzt, um deren wasserabstoßende Eigenschaften zu verbessern, oder als Antistatika, um eine elektrische Aufladung synthetischer Filamente zu verhindert (18).

Diorganozinn-Halogenide, besonders -Chloride, sind Ausgangssubstanzen zur Präparation anderer Diorganozinn-Verbindungen mit gleichen Alkylzinnresten (193,305), aber auch assymetrische Tetraalkylzinn-Verbindungen der Struktur $R_2\ Sn\ R'_2$ (58), Dihalotetraalkyldizinn-Verbindungen der Struktur $R_4\ Sn_2X_2$ (199,200,359) und polymere Organozinn-Verbindungen (302,304) werden aus geeigneten Diorganozinn-Verbindungen synthetisiert, zu denen sie auch meist im Laufe der Zeit wieder rückdekompensieren.

Die fungizide Aktivität der Diorganozinn-Verbindungen ist ca. 100-fach schwächer als die ähnlicher Triorganozinn-Verbindungen

(193), doch vermutet DAUM insektizide Eigenschaften bei dem schon als Anthelminthikum genannten Dibutylzinn-Dilaurat (94).

4.3. ANWENDUNGSGEBIETE DER TRIORGANOZINN-VERBINDUNGEN

Zur Verwendung von Triorganozinn-Verbindungen liegen in der Literatur eine Vielzahl von Berichten vor (15,29,46,71,174,178, 201,228,232,233,235,236,320,362,384,434,507,508,509,518).

4.3.1.

Seit circa 1920 finden verschiedene Organometall-Verbindungen als Pesticide Verwendung (Hg, Arsen, Antimon, Bismuth, Blei und auch Zinn) (94), doch im Gegensatz zu den anderen Schwermetallen beschränkt sich die biocide Wirksamkeit beim Zinn allein auf die Organozinn-Verbindungen. Hierbei sind die Triorganozinn-Verbindungen am wirksamsten, während metallisches Zinn und andere anorganische Zinnverbindungen praktisch unwirksam sind (39). VAN DER KERK und LUIJTEN zeigten, daß die Variation des Säurerestes bei den Triorganozinn-Verbindungen zwar die physikalischen Eigenschaften der Stoffe beeinflussen kann, aber auf die biologische Aktivität kaum Einfluß hat, so daß das Alkylzinnkation als das ausschlaggebende biologische Agens angesehen werden muß (229-233). Einer der hauptsächlich angewandten Stoffe dieser Gruppe ist das Bis (tributyl-zinn) oxid (=TBTO), von dem, wie schon erwähnt, bekannt ist, daß es sehr lichtempfindlich ist und, womit eine direkte Beziehung zu den in dieser Untersuchung angewandten Organozinn-Verbindungen besteht, zum Dibutylzinn-Dichlorid dekompensiert (39).

In ähnlichem Umfang finden die Triphenylzinn-Verbindungen für die eigens der Name "Fentine" geprägt wurde, Anwendung. Auch sie sind sehr empfindlich gegen Lichteinflüsse und Luftsauerstoff und zerfallen unter gradueller Abspaltung von Phenylgruppen zunächst zu Diorganozinn-Verbindungen und letzten Endes zu anorganischen Zinnverbindungen, was bei ihrer Anwendung aus toxikologischer Sicht von Vorteil ist, da sich somit keine schwerwiegenden Probleme toxischer Rückstände ergeben, wie es bei anderen Insektiziden und Fungiziden der Fall ist (18). Triorganozinn-Verbindungen sind auch wirksam als Fungizide, Bakterizide und

Herbizide, als Mittel gegen Algen und verschiedene Meeresbewohner, sowie als Molluscizide. Sie finden ihre Anwendung im Pflanzenschutz - haben dort möglicherweise auch die Wirkung eines Wachstumsfaktors -, bei der Bekämpfung industrieller Schleimbildung ("slimicides"), als Holzschutzmittel, besonders auch auf marinem Gebiet, in "antifouling" - und bioziden Anstrichen, in bioziden Kunststoffen, als "rodant-repellents" und als Desinfektionsmittel. Auch eine mögliche Anwendung als Tumortherapeutika wurde untersucht. Die einzelnen Aspekte seien hier kurz dargestellt.

4.3.2.

Vergleicht man die Fungizidie und Bakterizidie der Triorganozinn-Verbindungen mit anderen bioziden Stoffen, so haben sie eine den Hg-Verbindungen vergleichbare Aktivität (39,313,323,378); es besteht jedoch eine ausgeprägte Struktur-Wirkungsbeziehung. Nach BOKRANZ (39) liegt die MHK (Minimale Hemm-Konzentration) von Tributylzinn-Chlorid für E.coli bei 3,1 ppm, während Dibutylzinn-Dichlorid erst in mehr als vierfacher und die korrespondierende Mono- und Tetraorganozinn-Verbindung gar erst in etwa sechzigfach so hoher Dosierung ähnlich wirksam sind. TBTO ist sehr wirksam gegen gram-positive Keime (u.a. Staphylokokken), weniger gegen gram-negative, während Tripropylzinn-Verbindungen ein umgekehrtes Verhalten zeigen und besonders auf gram-negative Keime hemmend wirken (39,155).

VAN DER KERK und LUIJTEN zeigten, daß zur Erreichung einer möglichst hohen Fungitoxizität nicht die Länge der einzelnen Alkylgruppen des Trialkylzinn-Restes den entscheidenden Faktor darstellt, sondern die Gesamtzahl der Kohlenstoffatome der drei Alkylgruppen, die mit 9 - 12 ein Optimum erreicht (233). Verschiedenste Untersuchungen bestätigen dieses Ergebnis (292,294). Bei den aromatischen Triorganozinn-Verbindungen zeigten nur die "Fentine" (Triphenylzinnverb.) eine ähnliche Aktivität. Die Einführung funktioneller Substituenten reduziert nach NOLTES (351) die antifungische Aktivität, besonders, wenn es sich um wasserlösliche Substituenten handelt.

4.3.3.

Neben der Anwendung der Triorganozinn-Verbindungen als Mittel zur Algenbekämpfung (39) wird auch die Wirkung von Trivinylzinn-

Chlorid als Herbizid genannt (18), obwohl eine allgemeine Aussage hierzu noch nicht möglich ist, da SIJPENSTEIN "Brestan" (Fentin-Acetat) für einen das Pflanzenwachstum fördernden Faktor hält, während BAUMANN das Gegenteil beschreibt (18,170). Die Anwendung von Triorganozinn-Verbindungen zur Bekämpfung tierischer und pflanzlicher Meeresbewohner, wie Muscheln, Würmer und Algen, in der Form von Bewuchs verhindernden Anstrichen, stellt ein weiteres bedeutendes Einsatzgebiet für die Organozinn-Verbindungen dar (39,245). Das sog. "Toxicon-Verfahren" wurde speziell für dieses Anwendungsgebiet entwickelt (14).
Die Molluscizide Fentin-Acetat und -Chlorid sind als mögliche Mittel zur Bekämpfung bestimmter Süßwasserschnecken, die Zwischenwirte des Bilharzioseerregers sind, bekannt geworden (39,94,375). Mit beiden Stoffen wurden bereits Feldexperimente in Tanganyika und Südafrika durchgeführt (18). Diese Substanzen haben den Vorteil einer längeren Wirksamkeit als konventionelle Mittel, keine anderen Wasserbewohner, wie z. B. Fische, zu schädigen und in sehr niedriger Konzentration bereits wirksam zu sein. (0,015 ppm) (39). CARDARELLI entwickelte eine Methode der Schneckenbekämpfung durch die Einbringung kleiner, organozinnhaltiger Neopren-Kügelchen, deren Wirksamkeit mehrere Jahre betragen soll, in die Gewässer der betroffenen Gebiete (39,79).

4.3.4.

Eine der ersten Anwendungen der Triorganozinn-Verbindungen war ihr Einsatz als Insektizide (178,352,378): Im Gegensatz zu der bei der Fungitoxizität beschriebenen Struktur-Wirkungsbeziehung, wirken auf Insekten auch Methyl- und Äthylverbindungen hochtoxisch. TBTO zeigt etwa die gleiche Wirksamkeit wie DDT.
Ein Vorteil gegenüber vergleichbaren Mitteln liegt in der relativ geringeren Säugertoxizität (18). Eine Sonderstellung nehmen die "Fentine" ein, die zwar weniger stark insektizid, dafür aber auf Insekten eine fraßhemmende Wirkung haben, so daß z.B. Motten- und Termitenlarven verhungern. Weiterhin ist eine Chemosterilisierende Wirkung bekannt. Es besteht ein weiter Abstand zwischen der toxischen und der sterilisierenden Dosis (18,378,453).

4.3.5.

Die Triorganozinn-Verbindungen werden als Insektizide zum Schutz

von Holz und Holzbauten, aber auch von landwirtschaftlichen Anpflanzungen und nicht zuletzt im Textilschutz eingesetzt (94, 184,365,375). Vorteil der Anti-feeding-Eigenschaften der Triorganozinn-Verbindungen ist, daß die Textilien erst gar nicht geschädigt werden, während es bei anderen Insektiziden erst nach der Zerstörung des Materials zu einer toxischen Wirkung auf die Larven kommt (186).

Nicht nur die Zerstörung durch Insekten verhindern die Triorganozinn-Verbindungen, sie zeigen auch aufgrund ihrer bakteriziden und fungiziden Eigenschaften gute Erfolge als Verrottungsschutzmittel bei der Verhinderung des Abbaus cellulosehaltiger Textilien, wie Jute und Baumwolle, und beim Schutz von Tauwerk (Sisal, Manila), sowie Leder gegen Fäulnis und Schimmelbildung, besonders in feuchten und tropischen Gebieten (18,39,186,375). HUECK und LUIJTEN fanden, daß sich besonders asymmetrische Trialkylzinn-Verbindungen hierzu eignen und die Bindung zwischen Alkylzinnrest und Säurerest zur Erreichung einer guten Waschfestigkeit nicht zur Hydrolyse neigen sollte (186).

Von BLUM und BOWER (18) wurde gefunden, daß die steigende Länge des Säurerestes die Toxizität des Stoffes senkt, was wieder darauf hindeutet, daß allein das Alkylzinnkation der biologisch wirksame Teil ist. Die verwendeten Verbindungen zeigen gute Wasch- und Reinigungsfestigkeit (39,184), leichte Handhabung und den Vorteil, farblos und nicht färbend zu sein (94). Einen weiteren Vorteil bietet die Tatsache, daß die Imprägnierung von Textilien auch die bakterielle Zersetzung von Schweiß und somit die Entstehung von Körpergerüchen verhindert (294). Eine ähnliche Anwendung finden Triorganozinn-Verbindungen bei der Verhinderung der Geruchsentwicklung in Abfallbehältern und Müllschluckern (375), sowie in öffentlichen Waschräumen und Badeanstalten bei der Bekämpfung des Fußpilzes (39,294).

4.3.6.

Als Desinfektionsmittel leisten Tributylzinn-Präparate bei der Bekämpfung des Hospitalismus gute Dienste, werden aber zumeist, da sie eher bakeriostatisch als bakterizid und hauptsächlich

gegen gram-positive Keime wirken, mit quaternären Ammoniumverbindungen kombiniert (18,39,94,236,294,313,375). Ein im Handel befindliches Präparat ("Incidin") enthält neben Tributylzinnbenzoat noch Formalin (39,155,414).

REES (389) berichtet vom erfolgreichen Einsatz eines TBTO-Desinfektionsmittels ("Permachem") in Krankenhäusern der USA sowie in Südafrika.

4.3.7.

Im landwirtschaftlichen Bereich werden Triorganozinn-Verbindungen als Pflanzenschutzmittel, besonders als Blattfungizide und Mitizide, im Anbau von Kartoffeln, Rüben, Reis, Sellerie, Bananen, Kaffee, Kakao, Erdnüssen, Pekannüssen etc. verwendet und auch als Bakterizide für Saatgut. Sie können aber aufgrund ihrer Phytotoxizität nicht im Anbau anderer Früchte, von Gemüse, Wein oder Hopfen eingesetzt werden (18,39,94,171,369,370,378,453). Eine Ausnahme ist der Einsatz als Mittel gegen Spinnenmilben im Zitrusanbau (236). Zur Anwendung gelangen neben Tributylzinn und Tripropylzinn (375) vor allem die Fentine (18,39,50), welche am wenigsten phytotoxisch sind und sich im Feldexperiment am meisten bewährten (18,29,39,49,228,369,370), wie auch Tricyclohexylzinn-Verbindungen und Trineophylzinn-Verbindungen (228). Feldversuche fanden u.a. in Ostkamerun statt (111).

Im Handel befinden sich Biocide der Organozinngruppe unter den Namen

"Brestan"	(Fentin-Acetat),
"bio-Met"	(TBTO),
"Du-Ter"	(Fentin-Hydroxid),
"Fungi Ban"	(TBTO),
"Hollicide"	(TBTO),
"Lastomox P"	(TBTO),
"Lastomox T"	(TBTO),
"Liromatin"	(Fentin-Acetat),
"Nosperal"	(Fentin-Acetat),
"Permachem"	(TBTO),
"Plictran"	(Tricyclohexylzinn-Hydroxid),
"TBTO"	(TBTO) und

"Tin anti-slime" (TBTO) (171,362,518).

Durch den Zusatz von Zn- und Mg-Salzen wurde eine weitere Verbesserung der Pflanzenverträglichkeit bei erhaltener Fungitoxizität erreicht (18,39). Einen dreifachen Vorteil bietet der schnelle Abbau der angewandten Substanzen unter Sonneneinwirkung zum untoxischen, anorganischen Zinn:

- es besteht keine Kummulationsgefahr wie z.B. beim DDT,
- der zeitliche Sicherheitsabstand zwischen ihrer landwirtschaftlichen Anwendung und der Freigabe der landwirtschaftlichen Produkte als Nahrungsmittel muß nicht sehr lang sein,
- die Stoffe können nicht durch ihre bakterizide Wirkung auf gram-positive Keime bei der Präparation von Silofutter interferieren (18,29,39,236,292).

4.3.8.

In industriellem Kühlwasser, besonders bei Recycling-Systemen, im Wasser zur sekundären Ölgewinnung, in den Holzmühlen und im Papierherstellungsprozeß der Papierindustrie treten leicht schleimbildende Bakterien, Pilze und Algen auf, was häufig zu Fabrikationsstörungen und Papierqualitätsminderungen führt (18,39). In der <u>Beherrschung</u> dieser <u>mikrobiellen Schleimbildung</u>, die aufgrund der Vielfalt der vorkommenden Mikroorganismen viele Probleme aufwirft, werden Tributylzinn-Verbindungen und Tripropylzinn-Verbindungen seit Jahren erfolgreich angewandt (18,39,294,324, 378). Den hohen Kosten der Organozinn-Verbindungen stehen als Vorteile entgegen die im Vergleich zu den Konkurrenzprodukten (Organoquecksilber-Verbindungen, Trichlorophenol) geringere Toxizität, die Affinität zur Cellulose und somit zum Papier und die Tatsache, daß sie keine Korrosionsschäden verursachen und die Papierqualität nicht beeinträchtigen (94,375).

Auch in der Konservierung von "Holzschliff" für die Papierherstellung, dessen Pilzbewuchs zu erheblichen Papierschäden führt, haben sich Triorganozinn-Verbindungen bewährt (39).

4.3.9.

Die meisten Triorganozinn-Verbindungen sind gegen <u>holzzerstörende Pilze</u> wirksam (39). Alle Tributylzinn-Verbindungen zeigen eine hohe Aktivität und eine gute Auslaugbeständigkeit, die nach HOF und LUIJTEN (39) auf eine Fixierungsreaktion der Stoffe an Be-

standteile des Holzes zurückzuführen ist. Weitere Vorzüge sind: gutes Durchdringungsvermögen des Holzes, wasserabweisende Wirkung, Indifferenz gegenüber dem Holz und Metall, ein die Feuerausbreitung hemmender Effekt, sowie gute Streichbarkeit und sichere Handhabung (94). Sie sind selbst farblos, verfärben das Holz nicht und beeinträchtigen nicht die Haftung nachfolgender Anstriche (94,112,375).

Die Anwendung von Fentin-Acetat und Tributylzinn-Chlorid schützt das Holz gleichzeitig vor Insekten (94,296). Im marinen Holzschutz spielen Triorganozinn-Verbindungen eine Rolle als Antifouling-Farben, die den Unterwasserbewuchs reduzieren, um so die sehr kostenaufwendige Dockliegezeit der Schiffe zu verkürzen (18,39,294,296,324,403,473). Umfangreiche Untersuchungen auf diesem Gebiet wurden durch die Royal Australian Navy durchgeführt (111). Auch besonders dort, wo Schutzanstriche nicht möglich sind, z.B. auf Meßköpfen oder Glasflächen (Unterwasserkameras) bewähren sich die Organozinn-Verbindungen ("C$\overline{e}$ CAP"-System der Oceographic Industries Inc., USA) (331). Im Gegensatz zu Cu- und anderen Metall-Verbindungen, verursachen die Organozinn-Verbindungen keine galvanische Korrosion und erfordern somit keinen Grundanstrich (39). Da sie selbst farblos sind, erlauben sie die Herstellung weißer und heller Anstriche (39,94).

4.3.10.

Auch Kunststoffe können von Mikroorganismen bewachsen werden, denen die Zusätze (besonders Weichmacher) oder nach vorheriger Adaption, die Kunststoffe selbst als Nahrungsquelle dienen (39, 375). Da dieses meist zu einer Verschlechterung der physikalischen Eigenschaften der Kunststoffe (Versprödung, Verfärbung, Änderung der elektrischen Eigenschaften bei Isolierung und Kabelverschlußmassen) führt, ist die Herstellung von "biociden Kunststoffen" durch den Zusatz von Triorganozinn-Verbindungen sinnvoll (39,384). Ein mit Triorganozinn imprägnierter Kunststoff ist als Unterwasserschutzsystem im Handel ("Nofoul", B.F. Goodrich Company, USA) (111).

Fügt man Polyäthylen 1-2 % einer Tributylzinn-Verbindung oder Fentine zu, so erweisen sich diese Organozinn-Verbindungen auch

als Mittel, die Nahrungsmittel in derartiger Abpackung vor Schäden durch Nagerfraß zu schützen ("Rodent repellents") (18, 94,375).

Einige Triorganozinn-Verbindungen sollen auch als Stabilisatoren in Kunststoffen wirksam sein (113,408,514), andere als nicht-korrosive Schmiermittelzusätze (316,384). Triphenylzinn-Acetat wird als potentieller Tumorwachstumshemmer beschrieben (434). Die Anwendung von Triorganozinn-Verbindungen als Nematozide wurde schon genannt (46).

EVANS (111) beschreibt die Anwendung eines Organozinn-Präparates ("Thaltox Q") zum Schutz von Gebäuden, Wegen und Denkmälern gegen Moose, Flechten und Algen.

4.4. *ANWENDUNGSGEBIETE DER TETRAORGANOZINN - VERBINDUNGEN*

Neben dem Auftreten als Zwischenprodukte bei der Herstellung von Mono-, Di- und Triorganozinn-Verbindungen, spielen Tetra-organozinn-Verbindungen eine Rolle als Stabilisatoren für Transformatoröle (18,39,228,375,403), als Katalysatoren in der Olefin-Polymerisation (39,68,193,228,478) und als Schutzstoffe in Dichlorostyrenen (75) und Polyamiden (183).

Schon sehr früh wurde entdeckt, daß Tetraorganozinn-Verbindungen den oxidativen Abbau von Mineralölen in Transformatoren zu einem schlammigen Bodensatz verhindern (375). Aber auch als in den fünfziger Jahren Mineralöl-Ersatzmittel, chlorierte Aromate und Pyranole als Kühlmittel in Transformatoren eingesetzt wurden, blieben die Tetraorganozinn-Verbindungen als Zusätze in diesen erhalten, da sie als Auffänger des bei Kurzschlüssen, Funken- und Lichtbogenbildung sich abspaltenden HCl's, das sehr korrosiv wirken würde, dienten (18,39,375).

Zu diesem Zwecke sind nur geringe Stabilisatormengen notwendig, da ein Organozinnmolekül in der Lage ist, unter successiver Abspaltung der Alkylgruppen, vier Moleküle HCl abzufangen, wobei es über Tri-, Di- und Monoorganozinn zum anorganischen Zinn übergeht (39,403).

Bei der Niederdruckpolymerisation von Alkenen, besonders der des Polyäthyls, spielen sogenannte Ziegler-Natta-Katalysatoren eine große Rolle. Zu diesen gehören z.B. Aluminiumalkyl-Verbindungen, denen gegenüber Tetraalkylzinn-Verbindungen wie Tetrabutylzinn aufgrund ihrer Stabilität und leichten Handhabung einige Vorteile bieten und großtechnisch angewandt werden (39,193).

Fungizide Aktivität findet man nach Untersuchungen von NOLTES (351) nur bei Cyanomethyltributylzinn, was aber auf die Instabilität der Cyanomethyl-Zinn-Bindung gegen Hydrolyse zurückgeführt wird, so daß das aktive Agens der Gruppe der Triorganozinn-Verbindungen zuzurechnen wäre.

Auch in Scintillationsdetektoren für Röntgen- und Gammastrahlung finden Tetraarylzinn-Verbindungen Anwendung (378).

4.5. *SONSTIGE ANWENDUNGSMÖGLICHKEITEN VON ORGANOZINN-VERBINGUNGEN*

Neben den genannten gibt es weitere, eher unbedeutende Anwendungsmöglichkeiten für Organozinn-Verbindungen, wie z.B. bei der Aluminiumaktivierung, bei der Herstellung lumineszierender Pulver (403), zur Verbesserung der Hafteigenschaften von Klebestreifen, zur Glasfiberbehandlung etc. (18).
Komplexe Zinnverbindungen von Proteinen und Nukleoproteinen sollen wirksam gegen bestimmte Haut- und Blutkrankheiten sein (193).

KRAUSE und COLLIER untersuchten beide unabhängig von einander die Wirkung von verschiedenen Organoblei- und Organozinn-Verbindungen auf Malignome im Tierexperiment. Während aber die Organoblei-Derivate gute curative Wirkung zeigten, erwiesen sich alle untersuchten Tetra- und Triorganozinn-Verbindungen als unbrauchbar. Nur bei Fentin-Bromid und Tetraphenylzinn stellte COLLIER eine schwache, hemmende Wirkung auf das Tumorwachstum fest (78,263).

5. *MIGRATION DER DIALKYLZINN - VERBINDUNGEN AUS KUNSTSTOFFEN*

Dialkylzinn-Stabilisatoren können auf zwei Arten in den menschlichen Körper gelangen:

- aus Kunststoffen, die als Verpackungsfolien, Behälter, Leitungen oder Flaschen für Lebensmittel eingesetzt werden,
- aus Kunststoffen, die als medizinische Gebrauchsgegenstände Verwendung finden, oder durch den direkten Übertritt in den Organismus, worauf besonders die Untersuchungen von GUESS, 1966, über die Auswanderung aus Implantaten Hinweise geben (127,157,252,375,446).

Neben möglichen toxischen Wirkungen können weitere als negativ zu beurteilende Effekte durch derartig ausgewanderte Substanzen verursacht werden. Sie können beispielsweise die organoleptischen Eigenschaften - Aussehen, Geschmack, Geruch - beeinträchtigen oder die Nahrungsmittel auf anderem Wege verfälschen, verunreinigen oder ungenießbar machen.

Der Übertritt der Substanzen aus Behältermaterial in das Verpackungsgut ist in erster Linie ein Diffusionsproblem und somit abhängig von verschiedenen Variablen (Temperatur, Zeit, chemische Zusammensetzung und Volumen des Extraktionsmittels, Höhe des Stabilisatoreinsatzes, Kontaktoberfläche und Dicke des den Stabilisator enthaltenden Kunststoffes und dessen chemischer Struktur, Herstellungsverfahren und vorausgehende Behandlung und Lagerung des Polymers, Agitationseffekte während der Extraktion oder zuvor, Erfassungsgrenzen d.h. Empfindlichkeit der Bestimmungstechnik etc.), durch deren Änderung sehr unterschiedliche Extraktionswerte erzielt werden (127,157). Aufgrund der Vielzahl der Variablen und der von Land zu Land verschiedenen Vorschriften über die Methodik der Bestimmung der Extrahierbarkeit von Additiven in Kunststoffen, über welche VON DER HEIDE (175) eine Übersicht gibt, wurde eine Vielzahl von Migrationstests für Organozinn-Verbindungen beschrieben.

1959 konnte BERNT an Kaninchen trotz extrem hoher Applikation nur eine äußerst geringe, unbedenkliche Zinnresorption aus verfüttertem PVC feststellen (252).

KLIMMER und NEBEL stellten 1960 fest, daß durch wässrige

Extraktionsmittel nur geringe Mengen eines Organozinn-Stabilisators aus Hart-PVC herausgelöst werden, die extrahierten Mengen jedoch mit fallendem pH-Wert und Zunahme der fettlösenden Eigenschaften des Extraktionsmittels ansteigen. (H_2O: 2 ppm; Öl: bis zu 13 ppm) Aus Weich-PVC (PVC mit Weichmachergehalt) ließen sich bedeutend höhere Mengen des Stabilisators herauslösen (H_2O: bis zu 4 ppm; Öl bis zu 138 ppm; Wein: bis 150 ppm) (252).

Da die Stabilisatoren in den Weichmachern löslich sind, welche durch Lipidstoffe vollständig extrahiert werden können, also eine Art Vehikel für den Transport der toxischen Stabilisatoren darstellen, würde nach PIVER die alleinige Verwendung von weichmacherfreiem Plastik für Nahrungsmittelbehälter und medizinische Gebrauchsgegenstände das Diffusionsvermögen der Organozinn-Verbindungen um ca. vier Zehnerpotenzen erniedrigen (375).

MAZUR zeigte ebenfalls, 1965, (312) daß Dibutylzinn- und Dioctylzinn-Stabilisatoren aus PVC auch mit Aqua dest. extrahierbar sind.

WOGGON fand 1967 und 1969 trotz langer Extraktionszeit eine Migration von weniger als 2 ppm einer Dioctylzinn-Verbindung in Öl, und CERR's Untersuchungen über die Migration des hier geprüften Stabilisators Dioctylzinn-Maleinat zeigten eine maximale Auswanderung von 0,4 ppm in ein wässriges Medium (31,375,501).

Die von KOCH und FIGGE, 1971, aus PVC-Flaschen in Bier gefundene Auswanderung betrug nach acht Wochen nur 0,01 ppm (375).

Nach VON HEIDE, 1964, migrierten in Öl ca. 2 ppm eines Organozinn-Stabilisators (10 d/45°C) (175,31).

BERG (31) beschrieb 1970 eine Auswanderung von weniger als 1,5 ppm eines Organozinn-Stabilisators in Öl. Dieser Wert wurde auch nicht überschritten, wenn dem Kunststoff 1,35 % Gleitmittel zugesetzt wurde. Ein Zusatz von 29,7 % des Gleitmittels erhöhte die Stabilisator-Migrationsrate jedoch beträchtlich (> 140 ppm).

FIGGE und PIATER ermittelten in verschiedenen Versuchsserien die Extraktion (d.h. die Entfernung des Stabilisators aus dem

Packstoff unter extremen Versuchsbedingungen) eines Dioctylzinn-Stabilisators durch verschiedene Lösungsmittel und die Migration (d.h. den Übergang des Stabilisators aus dem Packstoff in die Füllgüter unter Lagerbedingungen) des Stabilisators in diese (116-122, 368).

Aus PVC, das 1,34 % des Stabilisators enthielt, ließen sich extrahieren (5 h/65°C) durch Öl 1,47 ppm, Öl mit einem Anteil freier Fettsäuren 5,49 ppm, Biskin 5,63 ppm und bedeutend größerer Mengen durch Diäthyläther (1740 ppm) und organische Lösungsmittel. Bei einer Lagertemperatur von 20°C migrierten nach 30 Tagen: in Biskin 1,12 ppm, in Butter 1,54 ppm und in Cocosfett 1,40 ppm. Nach 60 Tagen migrierten: in Biskin 1,07 - 1,12 ppm, in Cocosfett 1,96 ppm, in Butter 2,38 ppm, in SB-Margarine 0,8 ppm, in Öl 2,54 ppm und in Öl mit einem Anteil freier Fettsäuren 3,48 ppm. Die Migration in Dialkyläther war wiederum bedeutend größer und nahm mit wachsender Kettenlänge der Alkylreste ab, was sich auch an n-Alkanen zeigte.

WIECZOREK untersuchte 1970 (494) die Migration von Dioctylzinn in Speiseöl und Speiseessig, welche besonders häufig in Flaschen aus PVC, das mit Organozinn stabilisiert war, abgepackt werden. Die von ihm ermittelten Werte für Öl lagen in der gleichen Größenordnung wie die von FIGGE und PIATER beschriebenen Daten (0,8 mg Dioctylzinn-Stabilisator/ l Öl), die Werte für Speiseessig darunter (0,44 mg/l Essig). In Extraktionsversuchen mit Diäthyläther konnte er auch Spuren von als Trioctylzinn und Monooctylzinn gebundenen Zinnes feststellen. Die migrierte Organozinnmenge steigt nicht linear mit der Lagerungszeit an, sondern der größte Teil des in den Nahrungsmitteln zu findenden Organozinns geht bereits im ersten Monat der Lagerung in das Füllgut über.

WOGGON, KÖHLER und UHDE untersuchten 1967 (501,505) die "Schleppertendenz" von Gleitmitteln auf die Migration eines Dioctylzinn-Stabilisators und stellten eine solche erst ab 3 % eines Gleitmittelzusatzes fest. Sie hielten daher aus toxikologischer Sicht die Kombination von 2,5 % eines Gleitmittels - und 2 % eines Dioctylzinn-Stabilisatorzusatzes für vertretbar. Die unter Einsatz von 3 % Gleitmittel und 2 % Dioctylzinn gefundene Auswanderung von bis zu 0,5 mg Dioctylzinn/l Äthanol oder Öl würde nach ihrer Berechnung unter der eher unwahrscheinlichen Annahme

einer täglichen Ölaufnahme von 100 g durch den Menschen zu einer täglichen Höchstbelastung des Körpers mit 0,0007 mg Dioctylzinn/kg KG führen.

1969 und 1971 stellte SEIDLER an einem entweder an der Alkylgruppe oder am Säurerest markierten Dioctylzinn-Stabilisator fest, daß unter Normalbedingungen oder bei zusätzlicher UV-Lichtbestrahlung jeweils ähnliche Mengen des Stabilisators auswandern (0,16 - 0,46 ppm). Gesundheitliche Bedenken über eine stärkere Auswanderung des höher toxischen Säurerestes schienen in diesem Falle unbegründet (415,416). Wurde Dioctylzinn-Dichlorid als "Stabilisator" verwandt, so lag die Auswanderung dieser als Stabilisator-Spaltprodukt bekannten Verbindung mit 0,09 ppm (bei 10 d/45°C, was einer halbjährigen Lagerzeit bei 20°C entsprechen soll) noch bedeutend niedriger (415,505). In einer weiteren Studie stellte er 1971 fest, daß die Auswanderung des Dioctylzinn-Stabilisators in einem halben Jahr mit 0,15 - 1,7 ppm gering ist (128,416,417). Gleichartige Werte (maximal 1,6 - 1,8 ppm bei 10 d/45°C und bis zu 1,7 ppm bei mehrmonatiger Lagerung bei Zimmertemperatur) waren schon 1969 von UHDE (471) genannt worden, der die Auswanderung eines Dioctylzinn-Stabilisators aus Plastikflaschen in Speiseöl untersuchte (s. auch 502,503,504).

Auf das Problem, daß Dibutylzinn- und Dioctylzinn-Stabilisatoren auch durch Implantate oder medizinische Gebrauchsgegenstände auf parenteralem Wege in den menschlichen Körper gelangen können und hier viel toxischer wirken, als die den Menschen durch die Nahrungsmittel erreichenden Organozinn-Verbindungen, weisen die Untersuchungen von GUESS hin (157,446).
Unberücksichtigt bleiben kann die mögliche Entstehung von Monoalkyl- oder von toxischen Trialkylzinn-Verbindungen, da sich nur unter verschärften Extraktionsbedingungen kleine Mengen dieser Stoffe aus Dioctylzinn-Maleinat bilden (weniger als 5 % bezogen auf den Ausgangswert des Stabilisators). Unter praxisnaher Extraktion sind diese Spaltprodukte kaum nachweisbar, so daß für FRANZEN feststeht, daß "der weitaus größte Teil des Dinoctylzinn-Radikals des eingesetzten Stabilisators chemisch unverändert bleibt" und allein von toxikologischem Interesse ist (127).
Über die Verwendung von Additiven in PVC bestehen Festlegungen in den Mitteilungen des Bundesgesundheits-Amtes (59).

6. *TOXIKOLOGIE DER ORGANOZINN-VERBINDUNGEN*

6.1.

Aussagen über die Toxizität von Substanzen können im Rahmen der experimentellen Toxikologie meist durch das Tierexperiment und im Rahmen der Gewerbetoxikologie meist empirisch gemacht werden.

Die Aufgabe der Gewerbetoxikologie ist die Überwachung gefährdeter Personen unter Kontrolle der am Arbeitsplatz auftretenden Konzentration der potentiell toxischen Substanz. Bei den Dialkylzinn-Verbindungen würden zu dem gefährdeten Personenkreis besonders Kunststoffarbeiter, bei den Triorganozinn-Verbindungen besonders in der Landwirtschaft Beschäftigte zählen (353).

Tierexperimentell gewonnene LD_{50}-Werte ermöglichen zwar eine Einschätzung der Giftigkeit der untersuchten Substanz, lassen aber, da sie viele Faktoren, wie zum Beispiel in der Praxis angewandte Konzentrationen, Migrationswerte, Reinheitsgrad (bei den Organozinn-Verbindungen z. B. Gehalt an Fremdmetallen), Stabilität der Stoffe, eine mögliche Potenzierung durch andere Substanzen, ihre Flüchtigkeit und mögliche von ihnen ausgehende Warnreize, wie Geruch oder emetische Eigenschaften unberücksichtigt lassen, kaum eine Aussage über die Gefährlichkeit und Anwendbarkeit der Substanzen in der Praxis zu (251,353).

Bei den Organozinn-Verbindungen handelt es sich vornehmlich um das Problem einer chronischen Toxizität, der täglichen Einwirkung dieser Substanzen auf den menschlichen Körper über sehr lange Zeit (353).

Nicht außer acht gelassen werden dürfen eine kutane Toxizität mit ihren lokalen, generalisierten oder möglicherweise sensibilisierenden Wirkungen und die Inhalationstoxizität, wie sie besonders für Dimethylzinn-Dichlorid-Dämpfe bei der gewerblichen Beschichtung zu berücksichtigen ist.

Von großer Bedeutung ist die Natur des Vergiftungseffektes selbst. Äußern sich Vergiftungssymptome in schmerzhaften Koliken, Übelkeit und Schwindel, so wird die gefährdete Person sich schnell dem schädlichen Einfluß entziehen,

während sie durch Vergiftungszeichen wie Müdigkeit oder allgemeine Schwäche nicht so leicht auf ihre Gefährdung aufmerksam gemacht wird (21).

Neben der Beurteilung der zu untersuchenden Substanzen selbst muß auch die Frage nach der Toxizität möglicher Abbauprodukte gestellt werden (127).

6.2. *TOXIKOLOGIE DES ZINNES*

Der menschliche Körper enthält wenig Zinn und bisher wurde noch nicht gezeigt, daß es ein essentielles Spurenelement ist (24). Viele Untersuchungen zeigten keine Gefährdung durch eine geringe Zinnkontamination von Lebensmitteln in Konserven (449). Mehr als 200 ppm machen die Nahrung ungenießbar und führen zu Schwindel, Erbrechen und Diarrhoe (18,21,24,132,351,449,457). Wahrscheinlich werden Zinnsalze nur sehr schlecht resorbiert. Bei parenteraler Zinnsalzgabe wird eine erstaunlich hohe Anreicherung dieser Substanzen in der Haut gefunden, sowie eine langsame Elimination, hauptsächlich durch den Gastrointestinaltrakt (411). Neben Diarrhoe und Erbrechen werden neurologische Schäden nach hoher Zinnsalzgabe und eine Ablagerung im Retikuloendothelialsystem genannt (24,32,132). Bei Arbeitern, die jahrelang Zinndämpfe einatmeten, wurde das Metall in Lunge, Leber, Lymphdrüsen und Milz nachgewiesen, ohne Vergiftungserscheinungen hervorzurufen (32).

Durch Zinnstäube (SnO_2) hervorgerufene benigne Pneumoloniosen wurden beschrieben (24). Die orale LD_{50} von Zinnchlorid ($SnCl_4$) beträgt für die Ratte 700 mg/kg (132). Zinnhydrid (SnH_4) ist viel toxischer und wirkt besonders auf das ZNS (24). Organische Zinnsalze bewirken Paralysen mit terminal klonisch-tonischen Krämpfen. Sie werden sehr schnell durch die Niere wieder ausgeschieden (419). Intravenös oder subkutan appliziertes Stannitartrat ist weniger toxisch als die Triorganozinn-Verbindungen, führt aber auch zu einer Schwäche der hinteren Extremitäten, zur Gewichtsabnahme, Tremor und Krämpfen (449).

6.3. *TOXIKOLOGIE DER MONOORGANOZINN-VERBINDUNGEN*

Monoorganozinn-Verbindungen werden in der Literatur übereinstimmend als wenig und nicht toxisch bezeichnet (18,21,24,39, 46,127,235,378,449). Nur nach sehr hoher Dosierung des Monoäthylzinn-Trichlorid kommt es zur Hyperventilation, Vasodilatation und zum Tremor; bei rascher Erholung (449).

Bemerkenswert ist die Tatsache, daß die orale Toxizität der Monoalkylzinn-Salze mit wachsender Kettenlänge des Alkylrestes nicht so stark abfällt, wie die der Di- und Trialkylzinn-Verbindungen, so daß die Toxizität von Mono-n-octylzinn-Trichlorid mit 4600 mg/kg (orale LD_{50} an der Ratte) leicht über der des Di-n-octylzinn-Dichlorid und des Tri-n-octylzinn-Chlorides liegt (297). Von labormedizinischem Interesse ist die Wirkung von Monobutylzinn auf Meerschweinchenkomplement (161).

6.4. *TOXIKOLOGIE DER DIORGANOZINN-VERBINDUNGEN*

Die Toxizität der Dialkylzinn-Verbindungen nimmt ab mit wachsender Länge der an das Zinnatom gebundenen Alkylketten. Ihre Resorption und somit auch orale Toxizität ist in hohem Maße abhängig von der Wahl des Lösungsmittels und von der chemischen Struktur des mit dem Organozinnkation verbundenen Anions.

Ihre parenterale Toxizität liegt weit über der bei oraler Applikation beobachteten. Im Gegensatz zu den vornehmlich zentralnervös wirksamen Triorganozinn-Verbindungen führt die Gabe von Diorganozinn-Verbindungen neben Leber- und Gallengangsschädigungen bei einigen Spezies hauptsächlich zu einer zuerst vom Arbeitskreis des Instituts (KEMPER, RENHOF) und später von SEINEN (420-423) beschriebenen Veränderung des lymphatischen Systems.

6.4.1. *VERGIFTUNGSSYMPTOMATIK*

6.4.1.1.

Diäthylzinn-Verbindungen bewirken ein recht uncharakteristi-

sches Vergiftungsbild (24,39,202,449).

Die Wirkung von Diäthylzinn-Dichlorid wurde von mehreren Untersuchern, besonders aber von TAUBERGER und KLIMMER nach unterschiedlichen Applikationsformen an verschiedenen Spezies untersucht (Ratte, Maus, Kaninchen, Hund, Katze, dekapitierte Katze) (149,202,449,460).

Die beschriebenen Effekte sind zumeist zentralnervöser Art:

- Atmungsregulationsstörungen (anfängliche Hyperventilation, dann Atmungsdepression bis hin zum expiratorischen Atemstillstand)
- Kreislaufregulationsstörung (anfänglicher Blutdruckanstieg bei Tachykardie, dann bradykarder Blutdruckabfall)
- Schwäche der Hinterbeine (bei Ratten), Zuckungen im Facialis-Ausbreitungsgebiet (bei Katzen), agonale Krämpfe (bei Kaninchen)
- Miosis (nach anfänglicher Mydriasis), excessive Salivation.

Bei oraler Applikation wurden auch abdominelle Schmerzen der Tiere mit intestinalen Einziehungen und Diarrhoe beschrieben.

6.4.1.2.

Dibutylzinn-Verbindungen führen bei oraler Applikation bei Ratten und Mäusen zu einer Respirationsdepression, Ptose, herabgesetzter Irritabilität sowie zu Diarrhoen (66,393). Intraperitoneal appliziert bewirken sie bei Mäusen einen Flush von Ohren und Nase, als Zeichen peripherer Vasodilation, Schwäche, "stretching and writhing", Ataxie, Ptose und Tod durch Atemlähmung nach 2 bis 4 Tagen (66,157). Bei Kaninchen kommt es zur Paralyse der hinteren Extremitäten (66).

Unter Dibutylzinn-Dichlorid wurden bei Ratten und Mäusen Gewichtsabnahme, Leber- und Gallengangsschäden, intestinale Störungen mit Diarrhoe und bei 90-tägiger Applikation eine leichte Anämie beobachtet (21,139).

Bei 6-Monate-Fütterungs-Studien wurde über Wachstumsstörungen, eine herabgesetzte Nahrungsaufnahme und ausgepräg-

te Gallenwegsveränderungen berichtet (23). Die Tatsache, daß wiederholte Gaben kleinerer Dosen einen bedeutend schädlicheren Effekt als die einmalige Gabe einer relativ großen Dosis haben, mag möglicherweise durch die schlechte Absorption der Substanz erklärt sein. Der generalisierte toxische Effekt kann auch durch kutane Aufnahme recht kleiner Dosen hervorgerufen werden (23). Meerschweinchen scheinen gegen Dibutylzinn-Dichlorid relativ unempfindlich zu sein (21,23), während Mäuse und Kaninchen empfindlicher als Ratten reagieren (23).

6.4.1.3.

Dioctylzinn-Verbindungen und Diisooctylzinn-Verbindungen scheinen im Gegensatz zu Dipentylzinn und Dihexylzinn, die schwere Gewichtsverluste bewirken (18), oral und kutan bei Ratte, Maus, Meerschweinchen und Kaninchen recht untoxisch zu sein (23,149). Ihre intraperitoneale Toxizität ist jedoch ca. 10 mal höher (18) und intravenös verabfolgt zeigen sie sich so toxisch wie Dibutylzinn-Dichlorid (23).

In von NIKONOROW, MAZUR und PIEKACZ 1973 durchgeführten Untersuchungen an Ratten (350), denen sie drei Monate lang Dioctylzinn fütterten, wird von einem schnellen Gewichtsverlust der Tiere, unregelmäßigen Bewegungen, Schläfrigkeit, Diarrhoe und nassem, struppigem Fell berichtet. Die Autopsie der Tiere zeigte eine Hepatomegalie bei histologisch nicht-pathologischem Befund, intestinale Störungen mit histologisch gesichertem Mukosaverlust von Magen und Darmteilen sowie fiebrige Pneumonien und Endometritiden als mögliche Todesursache. In einer weiteren 12-Monate-Dioctylzinn-Fütterung an Ratten beobachteten die gleichen Autoren wiederum eine Körpergewichtsabnahme und Veränderungen der Serumproteine (Verringerung des relativen Albuminanteils bei gleichzeitiger Erhöhung der α_2- und γ-Globuline) (350).

1970 beschrieb PELIKAN (363) nach oraler Applikation letaler Dosen von Dioctylzinn-Maleinat an Mäusen eine generalisierte Schwäche und unregelmäßige, unkoordinierte Bewegungen

der Tiere, eine starke Salivation und eine unregelmäßige, mühsame Atmung. Die Reaktion auf verschiedene Stimuli war vermindert und mit fortschreitender Intoxikation wurde die Atmung flacher und klonische Konvulsion der Beine und manchmal präfinal generalisierte Krämpfe traten auf. Die Autopsie der Tiere zeigte neben intestinalen Schädigungen eine dunkelrote, konsistenzverminderte, vergrößerte Leber mit den histologischen Zeichen einer fettigen Degeneration. An den hyperämischen Nieren waren sporadisch Kapselpetechien und histologisch Zeichen einer fettigen Degeneration des Tubulusepithels sichtbar wie auch fokale Nekrosen in den Keimzentren der Milzfollikel (363).

Die toxische Wirkung von Diphenylzinn wurde 1966 von STONER (448) beschrieben.

6.4.2. *WIRKUNG DER DIORGANOZINN-VERBINDUNGEN AUF VERSCHIEDENE GEWEBE*

6.4.2.1. Wirkung auf die Leber und das Gallengangsystem:

1957 und 1958 wurden von BARNES, MAGEE und STONER an Ratten bei oraler, intravenöser oder kutaner Applikation von Dibutylzinn-Verbindungen Läsionen des Gallentraktes beschrieben, die auch durch einige andere Dialkylzinn-Verbindungen provoziert werden konnten, unter Dibutylzinn aber am stärksten ausgebildet waren (21,23,24,29,72,139,181,193,251,297, 375).

Schon nach einmaliger Dibutylzinn-Gabe trat ein Ödem des Pankreas im Bereich des ihn durchziehenden Gallenganges und eine entzündliche Veränderung des Gallengangsystemes auf. Eine Ausweitung des distalen, bei fast vollständiger Obstruktion des proximalen Teils des Gallenganges, multiple gelbe Infarkte der Leber und bei einigen Tieren schwere Peritonitiden und Fettgewebsnekrosen wurden beobachtet. Histologisch zeigt sich eine Unterbrechung der Kontinuität des Epithels sowie eine Infiltration des Gewebes. Der Effekt erwies sich als größtenteils reversibel mit den möglichen Residuen einer

leichten Pankreasfibrosierung und Verkürzung des Gallenganges. Die Gallengangschädigung nach wiederholten Dosen war bedeutend stärker. Jeweils beschränkten sich die Veränderungen des Pankreas auf den den Gallengang umgebenden Teil. Duodenum und Nieren wiesen keinerlei Zeichen einer Schädigung auf, während in den Nebennieren hämorhagische Veränderungen zu finden waren. Späte Todesfälle der Tiere nach 6 bis 10 Tagen wurden von BARNES und MAGEE nicht unmittelbar auf die toxische Wirkung des Organozinnes, sondern auf den ausgedehnten Schaden an Gallengangsystem und Leber zurückgeführt (21).

GRAS (149) fand eine erhebliche Zinnkonzentration im hepatischen Gewebe, nicht jedoch in der Gallenblase.

Bei Mäusen zeigte Dibutylzinn-Dichlorid eine ähnliche Wirkung und bewirkte eine stärkere Schädigung der Leber (21,67,139). Bei Kaninchen und Meerschweinchen fanden sich keinerlei Hinweise auf die Läsion des Gallenganges, der Leber oder des Pankreas und auch bei Hühnern sind keine ähnlichen Veränderungen beschrieben.

Die bei den Nagern gefundenen Schädigungen lassen sich im Gegensatz zu den primär-toxischen Effekten unter Dibutylzinn nicht durch Dimercaprol (BAL) antagonisieren (21,24,139). CALLEY, GUESS und AUTIAN fanden an Kaninchen unter Dibutylzinn-Applikation keine pathologischen Veränderungen der Serum-GPT, alkalischen Phosphatase und Prothrombinzeit, beschrieben bei Mäusen aber eine intrahepatische Cholestase, sowie eine verlängerte Schlafzeit bei Hexobarbitalnarkose. Pathogenetisch nahmen sie eine Reduktion der ATP-Produktion durch Dithiol-Hemmung an (66,67).

Unter Dioctylzinn kommt es bei Ratten, wie NIKONOROW (350) berichtet, zu einer Vergrößerung des Lebergewichtes ohne histologische Änderungen.

Bei Menschen, die Diäthylzinn zu sich genommen hatten, wurde dagegen keine Gallengangsschädigung beobachtet (siehe 6.5.3.).

6.4.2.2.

Wirkung auf die Lunge und Nebennieren:

Bei Ratten kommt es nach intravenöser Verabreichung ver-

schiedener Dialkylzinn-Verbindungen zum Lungenödem (24,460). Die Lungenschädigung ist unter Diäthylzinn und weniger unter Dipropylzinn-Dichlorid-Einfluß am ausgeprägtesten (23). Unter Dipentyl- und Dihexylzinn-Dichlorid-Behandlung kommt es bei Ratten nach oraler Applikation zu einer Hyperämie und hämorrhagischen Infiltration der Nebennieren (23).

6.4.2.3.

Wirkung auf das Gehirn:

Nach TAUBERGER und KLIMMER (460) hemmt Diäthylzinn-Dichlorid den O_2-Verbrauch im Rattenhirngewebe. Diäthylzinn hat keinen Effekt auf die Natrium und Kaliumkonzentration im Gehirn und Rückenmark. Es bewirkt bei der Ratte eine nur leichte Abnahme des Wassergehaltes des Gehirnes (24).

ROBINSON beschreibt nach intraperitonealer Dibutyl- und Dioctylzinn-Gabe einen Abfall des Noradrenalin- und 5-Hydroxytryptamin-Spiegels im Gehirn.

Nach Dibutylzinn ist auch der Noradrenalin- und Adrenalin-Spiegel der Nebennieren, nach Dioctylzinn der Noradrenalin-Spiegel des Herzmuskels erniedrigt, während Dibutylzinn dort den Adrenalinspiegel erhöht (337).

6.4.2.4.

Kardiotoxizität:

MEYLER bemerkte 1960 an isolierten Rattenherzen eine starke Verminderung der Herzleistung durch Kontakt mit PVC, welches durch Diorganozinn-Verbindungen stabilisiert war (328).

6.4.2.5.

Muskeltoxizität:

BERNT (32) implantierte pulverisiertes Dibutylzinn-haltiges PVC in die Oberschenkelmuskulatur von Kaninchen. Vergiftungserscheinungen wurden nicht beobachtet, vielmehr wurde PVC reizlos vertragen und war bei Sektion der Tiere vollständig resorbiert, ohne daß sich pathologische Befunde an Organen oder überhöhte Zinnkonzentrationen in ihnen nachweisen ließen.

GUESS (157) hingegen beobachtete bei Injektion von Dibutylzinn-Verbindungen in die paravertebrale Muskulatur von Ratten alle Symptome einer Diorganozinn-Vergiftung der Tiere. Auch kam es zu einer starken, in manchen Fällen durch die Haut ausbrechenden Gewebeschädigung und einer Destruktion der vom Rückenmark ausgehenden Spinalnerven. Kleine, in die Paravertebralmuskulatur von Kaninchen implantierte PVC-Streifen, die 5 % Organozinn enthielten, bewirkten abakterielle Nekrosen des sie umgebenden Gewebes, wie sie sich nicht bei Organozinn-freiem PVC zeigten.

6.4.2.6.
Toxische Wirkung auf Zellkulturen:

Nach Beobachtungen von GUESS hat PVC, das 5 % Organozinn enthält, keinen toxischen Effekt auf Hühnerembryozellen, die auf Agar gezüchtet wurden. Hingegen wurde für Dibutylzinn-Verbindungen ein cytotoxischer Effekt auf verschiedene andere Zellkulturen demonstriert (157,161).

6.4.2.7.
Wirkung auf Erytrozyten, Antisera und Komplement:

HABERMAN, GUESS u.a. (157,161) untersuchten verschiedene Dibutylzinn-Stabilisatoren und fanden, daß einige menschliche Erythrozyten hämolysieren, andere diese agglutinieren, wieder andere keinerlei derartige Effekte zeigen. Einige der Dibutylzinn-Verbindungen zerstören die Antikörper von Blutgruppenantiseren.

6.4.3. *RESORPTION, VERTEILUNG UND AUSSCHEIDUNG DER DIORGANOZINN-VERBINDUNGEN*

Dibutylzinn-Dichlorid wird nach BARNES und MAGEE (21) durch die Galle unverändert ausgeschieden.

SEIDLER (416/7) untersuchte 1971 die Absorption und Verteilung von Dioctylzinn-Dichlorid und Dioctylzinn-Dithioglycolsäure-2-äthylhexylester im Rattenorganismus. Er fand, daß der

Säurerest gut resorbiert und vollständig im Stoffwechsel abgebaut, das Dioctylzinn-Kation jedoch kaum vom Körper aufgenommen wird. Verestertes Dioctylzinn wird schneller resorbiert und metabolisiert als Dioctylzinn-Dichlorid. Für den Stoffwechsel ist in erster Linie aber das Dioctylzinn-Dichlorid als Folgeprodukt des Dioctylzinn-Dithioglykolsäureesters bedeutsam. Wahrscheinlich geschieht der Umbau zum Dioctylzinn-Dichlorid schon größtenteils im sauren Milieu des Magens. Dioctylzinn-Dichlorid läßt sich in der Leber, Niere, Milz und in überraschend hoher Konzentration im T h y m u s und in der H y p o p h y s e nachweisen.
BRIDGES, DAVIS und WILLIAMS konnten anhand des Diäthylzinn-Dichlorids nachweisen, daß Dialkylzinn-Dichloride sowohl im Körpergewebe als auch im Intestinum zu Monoalkylzinn-Trichloriden desalkyliert werden und daß bei intraperitonealer Diäthylzinn-Dichlorid-Applikation diese Substanz wie auch ihr Folgeprodukt zu einem Drittel renal und zu zwei Dritteln mit den Faeces ausgeschieden wird. Dieäthylzinn-Dichlorid-Ausscheidung erfolgt durch die Galle in Form tetra- oder polymerer Diäthylzinn-Oxide, die dann in saurem Milieu wieder in Diäthylzinn-Dichlorid zurückverwandelt werden können (46).

6.4.4. <u>CHRONISCHE TOXIZITÄT DER DIORGANOZINN-VERBINDUNGEN</u>

6.4.4.1.

BERNT (32) fütterte Kaninchen 16 Monate lang mit <u>Dibutylzinn</u>-Dichlorid-haltigem Plastikmaterial in einer Menge, die einer jährlichen Plastikaufnahme von ca. 2,8 kg durch den Menschen entspräche. Er beobachtete weder Zeichen einer Intoxikation, noch kam es zu Entwicklungsstörungen, Blutbildveränderungen, Porphyrie; ebenso wurde die Fertilität der Tiere nicht beeinträchtigt. Die Organe und Knochen der behandelten Tiere enthielten ca. 0,2 mg % Zinn.

BARNES und STONER fütterten Ratten Dibutylzinn-Dichlorid in verschiedenen Dosierungen über einen Zeitraum von bis zu 16 Monaten. Sie fanden bei einer Dosierung von mehr als 20 ppm Intoxikationszeichen und Gallengangsläsionen (23,24).

GAUNT (139) fütterte Ratten drei Monate lang Dibutylzinn-Dichlorid in verschiedenen Dosierungen. Er konnte aber außer einer leichten Gewichtsretardierung und einer herabgesetzten Futteraufnahme erst ab 80 ppm Gallengangsläsionen und einen leichten Hämoglobinabfall bei unveränderten Leber- und Urinwerten beobachten.

6.4.4.2.

Dioctylzinn wurde von KLIMMER und NEBEL (252) vier Monate lang an Ratten in Dosierungen, die den Ergebnissen von vorausgehenden Extraktionsversuchen mit nicht fetthaltigem Extraktionsmittel entsprachen, verfüttert, ohne daß sich Toxizitätszeichen oder pathologische Organveränderungen entwickelten. Der von ihnen festgestellte Zinngehalt der Organe lag unter 1 ppm.
NIKONOROW (350) zeigte, daß eine dreimonatige Verfütterung von Dioctylzinn-Verbindungen an Ratten in einer Dosierung, die einem Zehntel der zuvor bestimmten LD_{50} entsprach, für alle Tiere letal ist. Eine zehnfach niedrigere Dioctylzinn-Gabe (1/100 der LD_{50}) führt zu typischen Ausfällen und zu einer Lebergewichtserhöhung. Eine 12-monatige Fütterung führte zur Retardierung der Tiere und zu den bereits genannten Serumprotein-Veränderungen.
Reproduktionsstudien zeigten, daß die Verabfolgerung von Dioctylzinn vor der Gestation keinen Effekt hat, eine Applikation danach jedoch eine hohe Embryotoxizität zeigte.

6.4.5. *TERATOGENITÄT*

MCLAUGHLIN beschrieb 1963 das vermehrte Auftreten von Mißbildungen, besonders des Schnabels an Hühnerembryonen, denen Dibutylzinn-Dilaurat in einer Dosierung von 0,01 ml - einer Dosis, die alle Embryonen tötete - ins Eidotter ungelöst injiziert worden war (319).

6.4.6. *HEMMUNG DER α-KETO-OXYDASE DURCH DIORGANOZINN-VERBINDUNGEN; ANTIDOTE*

Die Arbeiten von BARNES, STONER, sowie ALDRIDGE und CREMER

zeigten, daß die Dialkylzinn-Verbindungen in vitro und in vivo mit Sulfhydryl-Gruppierungen reagieren und mit der α-Ketosäure-Oxydation durch Hemmung der α-Keto-Oxidase interferieren, so daß es zu einer Hemmung der mitochondrialen Atmung kommt.

Die toxische Wirkung ähnelt somit der dreiwertiger, organischer Arsenverbindungen wie Levisit (α-chlorovinyl-Arsindichlorid) und Diphenyl-Arsinchlorid, Gasdampfstoffen, welche ebenfalls mit Thiolen reagieren (8,18,21,24,29,193,246,251, 297,460).

Wirksam in dieser Weise sind die Dimethyl- bis Dihexylzinn-Verbindungen, möglicherweise aber nicht die Dioctylzinn-Verbindungen (251,375).

Durch die Sulfhydrylverbindung Dimercaprol (BAL) kann der toxische Effekt der Diorganozinn-Verbindungen stark herabgesetzt werden (Dosierung: 2 x 30 mg BAL/kg täglich (29)). Jedoch zeigt im Gegensatz zu den Arsenverbindungen die Gabe von Gluthation keinen Effekt (8,18,21,24,183,297,449).
Die Versuche von BECKER, 1973 (29), zeigten, daß bei akuten Diäthylzinn-Dichlorid-Vergiftungen an Ratten nur BAL (2,3-Dimercaptopropanol, Dithioglycerin) in hohen Dosen und besonders gut D-Penicillinamin-HCl (D-β,β-Dimethylcystein, D-β-Thiovalin), nicht jedoch Natrium-Thiosulfat ($Na_2S_2O_3$) und Ca-Na_2-EDTA (Ca-Na_2-Versenat, Ca-Na_2-Aethylendiamin-Tetraessigsäure) signifikante therapeutische Effekte auf Mortalität und Morbidität durch die Organozinn-Verbindungen zeigen. Aus diesem Grunde wurde der Vorschlag gemacht, bei Dialkylzinn-Vergiftungen probeweise D-Penicillinamin-HCl anzuwenden, das bei gleicher therapeutischer Wirksamkeit weniger unerwünschte Nebenwirkungen als BAL bietet (Dosierung 2 x 500 mg/kg täglich).

Möglicherweise weist dieser Reaktionsmechanismus auf die besondere toxikologische Bedeutung des Säurerestes der anionischen Gruppe des Moleküls hin. Denn stark dissozierte Dialkylzinn-Verbindungen wie Dialkylzinn-Dichloride reagieren eher mit freien Thiolgruppen, als Verbindungen, die schon zwei Zinnschwefelbindungen enthalten. Auf diese Weise mag

auch die niedere Toxizität schwefelhaltiger Stabilisatoren eine Erklärung finden wie Dimethylzinn-S, S'-di-octyl-mercapto-etanoat, dessen LD_{50} für die Ratte über 1000 mg/kg liegt, verglichen mit 70-80 mg/kg für Dimethylzinn-Dichlorid.

6.4.7. *CUTANE TOXIZITÄT*

Schon 1869 bemerkten JOLYET und CAHOURS (202) die generell reizende und emetische Wirkung von Diäthylzinn-Dichlorid. Die niederen Dialkylzinn-Verbindungen sind hautreizend und hautschädigend und führen bei oraler Applikation auch zu einer starken Reizung der Magenschleimhaut (18,21,23,24). Beim Menschen bewirkt Dibutylzinn-Dichlorid, aber kein anderes Dibutylsalz, eine leichte Hautschädigung (24). Auch Dipropylzinn und Diisopropylzinn verursachen tiefreichende Hautläsionen und Schäden des darunter liegenden Gewebes. Dipentylzinn, Dihexylzinn und Dioctylzinn verursachen keinerlei Hautreaktionen (18,23,297).

Auch GUESS (157,129) berichtet, daß die intradermale Injektion von Dibutylzinn, nicht aber von Dioctylzinn, zu Nekrosen führt. Der gleiche Autor berichtet über schwere Augenschädigungen bei Kaninchen durch auf die Konjunktiven getropfte Dibutyl- und Dioctylzinn-Verbindungen.

6.4.8. *WIRKUNG AUF DIE NEUROMUSKULÄRE ÜBERTRAGUNG*

Am Phrenicus-Diaphragma-Präparat der Ratte beeinflußt Diäthylzinn-Dichlorid die tetanische Reizantwort auf Phrenicusstimulation nicht, verursacht aber nach fünf Minuten selbst eine irreversible Kontraktion (449).

6.4.9. *WIRKUNG DER DIORGANOZINN-VERBINDUNGEN AUF DAS LYMPHATISCHE SYSTEM*

SEIDLER (416/417) berichtete 1971 von einer besonders intensiven Speicherung von DOTC im Thymus. Die Effekte von Organozinn-Verbindungen auf das lymphatische System wurden bisher besonders von der Gruppe um SEINEN (420-423) untersucht.

6.4.9.1.
Beeinflussung der Organgewichte:

In einem Fütterungsversuch an Ratten mit Dioctylzinn-Dichlorid beschrieb SEINEN (420) eine starke Reduktion des Thymusgewichtes der Tiere schon bei einer Verabreichung von nur 50 ppm. Die Thymusathrophie wurde nicht durch "Streß" hervorgerufen, da das Gewicht der Nebennieren unverändert war, diese histologisch keine Zeichen von Hyperaktivität zeigten und auch adrenalektomierte Tiere eine ähnliche Thymusreduktion zeigten. Dosisabhängig herabgesetzt war auch das Gewicht der poplitealen Lymphknoten der Tiere, sowie ihr Milzgewicht. Hier wurde eine Lymphozytendepletion der Thymus-abhängigen Areale bei unveränderten follikulären Strukturen gefunden. Signifikant dosisabhängig erhöht war die Aktivität der alkalischen Phosphatase in Serum, Leber und Nieren aller Tiere, nicht jedoch in Thymus und Milz.

150 ppm Dioctylzinn-Dichlorid bewirkten eine Wachstumsretardierung, eine Erhöhung des relativen Lebergewichtes, Schädigungen im Bereich der Lunge und der Nieren. In Thymus und Milz, nicht jedoch im Knochenmark, waren die Zellzahl und Lebensfähigkeit der Zellen dosisabhängig erniedrigt. Nach 4-wöchiger Gabe von 150 ppm enthielt der Thymus nur noch 6 % der Zellen eines Kontrollthymus.
In weiteren Fütterungsversuchen stellte SEINEN (421) an Ratten ähnliche Wirkungen auf Thymus, Milz und popliteale Lymphknoten auch unter Dibutylzinn-Dichlorid, weniger unter Dipropylzinn-Dichlorid und Diäthylzinn-Dichlorid, nicht aber unter Dimethylzinn-Dichlorid, Didodecylzinn-Dibromid, Dioctadecylzinn-Dibromid, Trioctylzinn-Chlorid, Monooctylzinn-Trichlorid und Tetraoctylzinn fest.

Dibutylzinn-Dichlorid wirkte toxischer auf die Tiere und führte in höherer Dosierung zu Gallengangs- und Leberschädigungen sowie zu abdominellen Ödemen (Pericholangitis, Periportale Fibrose).

An Mäusen und japanischen Wachteln konnten ähnliche Auswirkungen von Dioctylzinn-Dichlorid bzw. Dibutylzinn-Dichlorid nicht festgestellt werden.

Während Vögel überhaupt sich als sehr unempfindlich gegen Organozinn-Verbindungen zeigten, waren Meerschweinchen äußerst empfindlich gegenüber Dioctylzinn-Dichlorid, das zu schweren Erkrankungen aber zu keiner "spezifischen" Thymusreduktion führte.
Erholungsstudien an Ratten zeigten, daß stark reduziertes Thymusgewicht sich nach Absetzen der Substanz wieder völlig normalisiert und es sogar zu einer zwischenzeitlichen Oberkompensation kommt.
Nach wiederholten intravenösen Gaben an Ratten kam es, wie bei den Fütterungsversuchen unter Dimethylzinn-Dichlorid und Didodecylzinn-Dibromid, zu keiner Thymuswirkung und unter Diäthylzinn-Dichlorid nur in Dosierungen, die auch eine Wachstumshemmung und Leberschädigung bewirkten. Bei Dibutylzinn-Dichlorid und besonders Dioctylzinn-Dichlorid bewirkten schon mehrmalige intravenöse Gaben von 1 mg/kg KG eine Thymusreduktion, während Auswirkungen auf Wachstum, Leber und Niere erst ab 4 mg/kg KG zu bemerken waren. Sogar einmalige Dioctylzinn-Dichlorid-Injektionen von 1 mg/kg KG zeigten eine Wirkung auf den Thymus.

1978 fand SEINEN (423), daß bei Verfütterung an die Ratte auch Tributylzinn-Chlorid und Phenylarsin-Dichlorid, möglicherweise auch Diphenylzinn-Dichlorid und Triphenylzinnchlorid eine leichte Wirkung auf den Thymus haben. Dialkylblei-Verbindungen, Di-ester-zinn-Dichloride, welche im Gastrointestinaltrakt möglicherweise hydrolysiert werden und Organo-Germanium-Verbindungen, sind nicht wirksam.
Bei der Maus konnte durch intravenöse Dibutylzinn-Dichlorid- und Dioctylzinn-Dichlorid-Gabe eine Thymusreduktion erzielt werden. Die sehr toxische Wirkung dieser Substanzen beim Meerschweinchen, wird über eine Störung der cäcalen Fermentation erklärt (morphologisch: schwere villöse Atrophie).

Eine erhebliche Atrophie lymphoider Organe, Wachstumsstörungen und eine erhöhte Sterblichkeit der Tiere, mit einem Krankheitsbild ähnlich dem "Runting-Syndrom" nach neonataler Thymektomie wurde beobachtet, wenn die Applikation von Dibutylzinn-Dichlorid an Ratten sofort nach der Geburt begann.

MILLER, HARTUNG und CORNISH (330) beschrieben 1978 bei Ratten, die Dimethylzinn-Dichlorid und Diäthylzinn-Dichlorid ins Trinkwasser erhalten hatten, eine Thymusatrophie und Lymphozytendepletion, ähnlich der zuvor von SEINEN für Dibutylzinn-Dichlorid und Dioctylzinn-Dichlorid beschriebenen.

HENNINGHAUSEN und LANGE (176) konnten im gleichen Jahre von einer Thymusreduktion und Verminderung der Thymozyten bei Mäusen, nicht aber von Milzveränderungen berichten, denen 30 mg/kg Dioctylzinn-Dichlorid und mehr intramuskulär appliziert worden war. Der Effekt zeigte eine bedeutend längere Dauer als von SEINEN für Ratten bei oraler Applikation beschrieben. Mäusen intragastral appliziertes Dioctylzinn-Dichlorid (ab 300 mg/kg KG) bewirkte eine Thymus- und Thymozytenzahl-Reduktion, die jedoch nie mehr als 50 % betrug.

6.4.9.2.

Beeinflussung des Immunsystems in vivo:

SEINEN (422,423) stellte unter verschiedenen Organozinn-Verbindungen eine Herabsetzung der zellulär vermittelten Immunität (verzögerte Hypersensitivitätsreaktion auf Tuberkulin, Transplantatabstoßung, Graft-versus-host-Reaktion, Resistenz gegen Listeria monozytogenes, Lymphozytentransformation durch T-Zellmitogene) fest. Die humorale Immunantwort fand er bei T-Zell-abhängigen Antigenen (SRBC) herabgesetzt und normal bei T-Zell-unabhängigen Antigenen (LPS).

Die Hypersensitivitätsreaktion vom verzögerten Typ auf Tuberkulin, gemessen an Dicke und Durchmesser der Hautreaktion, konnte an Ratten, nicht aber an Meerschweinchen, durch Dioctylzinn-Dichlorid dosisabhängig erniedrigt werden.

- Die Abstoßungszeit cutaner Fremdtransplanate konnte durch Dioctylzinn-Dichlorid und besonders Dibutylzinn-Dichlorid verlängert werden.
- Die Antwort von Thymocyten und Milzlymphozyten auf T-Zell-mitogene (PHA, Con A) fand sich herabgesetzt, während die Antwort auf B-Zell-mitogene (LPS) unverändert war.

- Eine gesteigerte Endotoxin-Empfindlichkeit (i.v. LPS) wurde bei den behandelten Ratten gefunden.
- Während Dibutylzinn-Dichlorid den Antikörpertiter gegen LPS nicht wesentlich veränderte, wurde die primäre Antikörperreaktion gegen SRBC durch Dibutylzinn-Dichlorid und Dioctylzinn-Dichlorid herabgesetzt (verminderte PFC Antwort, herabgesetzter Hämagglutinationstiter, verminderte Hämolysinantwort).
- Nicht geschädigt durch die Dibutylzinn-Dichlorid-Applikation wurden Makrophagen, da weder die Anzahl der Monozyten im peripheren Blut, noch die Phagozytose-Aktivität, gemessen an der intravenösen Kohlenstoffclearance, herabgesetzt war.
- Das Knochenmark Dibutylzinn-Dichlorid-behandelter Mäuse zeigte keine Zeichen einer Schädigung während die Fähigkeit, in der Milz letal bestrahlter Mäuse, Kolonien zu bilden, verringert war.

6.4.9.3.
<u>Wirkungen in vitro</u>:

- Die Zellzahl und Lebensfähigkeit von Rattenthymozyten, nicht aber von Knochenmarkszellen, wird durch die Zugabe von 50 µg/ml Dibutylzinn-Dichlorid oder Dioctylzinn-Dichlorid, nicht jedoch durch andere Dialkylzinn-Dichloride, verringert.
  Bei Maus- und Meerschweinchenthymozyten konnte kein Effekt festgestellt werden, während bei menschlichen Thymozyten durch Dibutylzinn-Dichlorid und Dioctylzinn-Dichlorid die Zellzahl verringert wird und eine Neigung zur Bildung von Aggregaten mit herabgesetzter Lebenszeit auftritt (423).
- MILLER, HARTUNG und CORNISH (330) vermuteten, daß die Dialkylzinn-Verbindungen Sulfhydryl-Gruppen der Plasmamembran, die für den Transport von Aminosäuren notwendig sind, binden. An suspendierten, mit Dimethylzinn-Dichlorid oder Diäthylzinn-Dichlorid behandelten Rattenthymozyten, fanden sie eine reduzierte Zahl titrierbarer Sulfhydryl-Gruppen; auch war der Transport von α-Amino-isobutyrat in die Zellen

herabgesetzt. Dieser Effekt kann durch zusätzliche Gabe von 17 ß-Östradiol, nicht aber durch Testosteron, vermindert werden.

- Nach SEINEN (423) soll die primäre Wirkung von Dibutylzinn-Dichlorid und Dioctylzinn-Dichlorid eine Hemmung der Zellproliferation sein. Erst in höherer Konzentration wirken diese Stoffe zytotoxisch.
  Durch Dibutylzinn-Dichlorid und Dioctylzinn-Dichlorid wird die Zellteilungsrate von Thymozyten und Milzlymphozyten dosisabhängig herabgesetzt, die ^{3}H-Thymidin-Inkorporation in DNA gestoppt und die DNA-Synthese gehemmt (durch 5 µg DOTC/ml). Die DNA-Replikation von Knochenmark- und Tumorzellen kann nur durch eine vielfach höhere Konzentration von Organozinn-Verbindungen gehemmt werden. Im Lymphozyten-Transformationstest zeigten die verschiedenen Dialkylzinne kaum Unterschiede, auch konnte keine spezielle speziesabhängige Empfindlichkeit (Ratte, Maus, Mensch) festgestellt werden.
- Der Energiemetabolismus von Rattenthymozyten wurde beeinflußt durch Dibutylzinn-Dichlorid, Diäthylzinn-Dichlorid, Bis-ß-carbobutoxyäthylzinn-Chlorid und Dihexylblei-Diacetat, stärker noch durch Phenylarsin-Dichlorid, erst in höheren Konzentrationen durch Dimethylzinn-Dichlorid, Dioctylzinn-Dichlorid und Bis-ß-carbometoxyzinn-Chlorid, nicht jedoch durch Dibutylgermanium-Dichlorid. Bis zu einer Konzentration von 5 µ mol stimuliert Dibutylzinn-Dichlorid die Glukoseaufnahme und ihre Umwandlung zu Laktat und Pyruvat, bei nur leicht gesenktem O_2-Verbrauch. Höhere Konzentrationen führen schnell zu einer Herabsetzung der Glukoseaufnahme und des Sauerstoffverbrauches.
  Die Unterschiede zwischen den verschiedenen Substanzen sowie speziesabhängige Differenzen können aber durchaus durch unterschiedliche Resorptions-, Verteilungs- und Stoffwechslungsgrößen erklärt werden, über die noch keine ausreichenden Kenntnisse vorliegen.

6.5. *TOXIKOLOGIE DER TRIORGANOZINN-VERBINDUNGEN*

Die kurzkettigen Trialkylzinn-Verbindungen sind wesentlich toxischer als die vergleichbaren Dialkylzinn-Derivate. Dieser Unterschied wird bei den längerkettigen Verbindungen jedoch geringer, so daß hier Trioctylzinn ähnlich wie Dioctylzinn zu bewerten ist. Weiterhin besitzen die Triorganozinn-Verbindungen eine spezifisch hemmende Wirkung auf die oxydative Phosphorylierung, das Vergiftungsbild wird hauptsächlich durch Erscheinungen des Zentralnervensystems geprägt. Als Massenvergiftung bekannt wurde 1954 die französische "Stalinon"-Affäre, bei der Vergiftungen mit Triäthylzinn zum Tode von mehr als 100 Personen führten.

6.5.1. *Vergiftungssymptomatik:*

Nach Triäthylzinn-Gabe wurde bei Ratten als direkt einsetzende Wirkung ein leichter "narkotischer Effekt" (23,393,449), Zeichen von Durst (449) und eine anfängliche Erregtheit mit Piloerektion und durch Adrenalektomie vermeidbarer Hyperglykämie beobachtet (29,393,449,460,493). Später setzt ein charakteristisches zentralnervöses Vergiftungsbild ein, mit einer Paralyse der Hinterbeine, die nach Absetzen der Substanz reversibel ist, mit Tremor und tonisch-klonischen Krämpfen bis zum Tod der Tiere (18,23,192,287,393,449). Weiterhin beschrieben sind eine allgemeine Schlaffheit und muskuläre Schwäche, erhebliche Verminderung der Atmung, kardio-vaskuläre Regulationsstörungen und eine Senkung der Körpertemperatur, sowie präfinal ein komatöses Erscheinungsbild (23,29,193,253,449,460). Kaninchen sind Triäthylzinn gegenüber besonders empfindlich (24,449).
Untersuchungen an Katzen und Hunden weisen auf ein zentralnervöse Regulationsstörung als Ursache der veränderten Atmung und Kreislaufsituation hin (460).
Am Huhn wirkt die Substanz oral verabreicht nicht sehr toxisch, führt jedoch bei parenteraler Verabreichung zu einem Kollaps der Tiere mit ausgeprägter Salivation, muskulärer Schlaffheit, konvulsiven Bewegungen, Respirationsdepressionen

und manchmal zu unmittelbarem Tod der Tiere. Spätere Lähmungen sind bei dieser Spezies nicht zu beobachten (23,24,449).

Die Gabe kleiner Mengen von Triäthylzinn soll die Futterausnutzung bei Hühnern verbessern (378), größere Mengen bewirken eine Wachstumsverlangsamung (378).

Tributylzinn ist untoxischer als Triäthylzinn, möglicherweise bedingt durch ein anderes Absorptions- und Verteilungsverhalten, und führt bei Ratten nicht zu besonders ausgeprägten Paralysen (18,23,193,297,393). Beobachtete Gallengangsschäden werden als Folge einer möglichen Konversion zu Dibutylzinn diskutiert (23). Bei Kaninchen führt diese Substanz auch bei Gabe in den Augenbindesack zur Schwäche und Hyperreflexie (416,417).

Auch Trimethylzinn ist weniger toxisch. Es führt bei Nagern zur Erregtheit und einem Vergiftungsbild, welches dem organischer Bleivergiftungen ähnelt (21,23,24,449).

Triphenylzinn setzt die metabolische Aktivität herab und führt zur Atemlähmung, bewirkt aber keine Lähmungen der Extremitäten (21,247,249,448,459).

Ein kumulativer Effekt kleiner Dosen, die zur völligen Teilnahmslosigkeit der Versuchstiere führen, wurde beschrieben (247). Weiterhin wurde eine vermehrte Infektanfälligkeit und Wachstumsverzögerung bei chronisch mit Triphenylzinn gefütterten Tieren beobachtet (249,297,378). STONER (448) prüfte Triphenylzinn an Hühnern und fand eine deutlich verminderte Empfindlichkeit dieser Spezies bei oraler, nicht jedoch bei parenteraler Applikation. Trioctylzinn wirkt bei oraler Gabe nicht toxisch (18,23,24).

Die Unterschiede im Vergiftungsbild zwischen Di- und Triorganozinn-Verbindungen können möglicherweise auf eine bessere Schrankengängigkeit der Triorganozinn-Verbindungen zurückgeführt werden, die im Körper nur Dimere der Struktur $R_3\ Sn{-}O{-}Sn\ R_3$ bilden können, während die Diorganozinn-Verbindungen die Möglichkeit zur Bildung längerkettiger Polymere der Struktur $-(R_2\ Sn\ O)_n-$ haben (18).

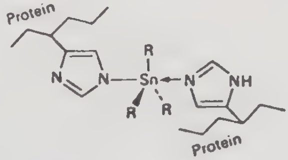
6.5.2. *Wirkung auf verschiedene Organe und Gewebe*

Im Zentralnervensystem verursachen Triäthylzinn, Tripropylzinn und Tributylzinn, nicht jedoch noch längerkettige Triorganozinn-Verbindungen, aber auch Trimethylzinn und Triphenylzinn, ein interstitielles Ödem der weißen Hirn- und Rückenmarkssubstanz (9,18,21,23,24,29,47,223,251,287,297,306,375,388, 448,451/2.) Diese Erscheinungen sind reversibel; wahrscheinlich kommt es zu keiner direkten Schädigung der Neurone (173, 297,306). Verschiedene biochemische Veränderungen innerhalb des ZNS unter Triäthylzinn sind beschrieben und werden im Zusammenhang mit dem sich entwickelnden Hirnödem diskutiert (85,88,333,450,469,470). Die O_2-Aufnahmee des Gehirns und Rückenmarks, nicht jedoch der Erythrozyten und Leber, ist herabgesetzt, wie auch der O_2-Verbrauch, während die O_2-Gewebsgehalte, der Wassergehalt des Gewebes und der Natriumspiegel erhöht sind (18,24,83,85,223,450,452). Unterschiedliche Beobachtungen liegen über eine mögliche Permeabilitätssteigerung der Bluthirnschranke durch Triäthylzinn vor (9,24,29,375,452). Der Katecholaminspiegel im Gehirn, Herzmuskel und in den Nebennieren wird durch Triäthylzinn und Tributylzinn ähnlich wie durch die Diorganozinn-Verbindungen beeinflußt (333,393). SUZUKI (375) konnte 1971 bei Triäthylzinn-Gabe an neugeborene Ratten akute, diffuse hämorrhagische Enzephalitiden beobachten. Bei chronischer Applikation kam es zum diffusen "Status spongiosus" des ZNS.

Die neuromuskuläre Übertragung wird durch Triäthylzinn herabgesetzt (85,173). Am isolierten Froschrektus wirkt die Substanz selbst depolarisierend und ruft, wie Trimethylzinn, eine durch Pentamethonium nicht antagonisierbare Kontraktur hervor (449,460). Die Wirkung von Turbocurarin und Dekamethonium wird durch diese Zinnverbindungen verstärkt (24,449).

Einige Triorganozinn-Verbindungen führen zu hepatischen, lienalen, renalen und intestinalen Schäden (18,67,251,334,362). Die Triorganozinn-Derivate bewirken eine Erhöhung der SGPT (66). Triäthylzinn soll auch die Aktivität der Pseudocholinesterade im Pferdeserum erhöhen (449).

Wie ALDRIDGE (7) zeigte, sind Triorganozinn-Verbindungen hochspezifische Hemmer der oxydativen Phosphorylierung in schon sehr geringer Konzentration (10^{-7}M: 50 % Hemmung). Sie hemmen den Schritt des Energietransfers zwischen Elektronentransport und ATP-Bildung (7,8,18,21,24,29,83,86, 87,246,251,375,434,439).
Die Glykolyse wird durch diese Triorganozinn-Verbindungen nicht gehemmt, so daß es zu einem Ansteigen des Gewebelaktatspiegels kommt (24,83,86,87,375). Triphenylzinn, welches nicht zu Veränderungen des ZNS führt, beeinflußt auch die Zellatmungsvorgänge nicht (251). Möglicherweise beruht die Wirkung der Trialkylzinn-Verbindungen auf einer Bildung von penta-koordinierten Trialkylzinn-Histidin-Komplexen (434):



Da das Anion der Triorganozinn-Verbindung an dieser Komplexbildung nicht beteiligt ist, wäre dieses eine mögliche Erklärung für die geringe Bedeutung der chemischen Natur des Anions für die Toxizität der Triorganozinn-Verbindungen.

6.5.3. *Vergiftungsfälle*

1954 wurde in Frankreich das Präparat "Stalinon" zur Behandlung von Furunkeln und anderen durch Staphylokokken hervorgerufenen Hautinfektionen, Akne und Osteomyelitis verkauft. "Stalinon" sollte Diäthylzinn-Dijodid (15 mg/ Kapsel, bei empfohlener Dosierung von 6 Kapseln/Tag über 8 Tage) und Vitamin F enthalten (21,24,47,249,297,301,375). Da das Diäthylzinn des Präparates jedoch bis zu 10 % durch das bedeutend toxischere Triäthylzinn verunreinigt war, kam es zur Vergiftung einiger hundert Personen, von denen 217 bekannt wurden, und mehr als 100 Todesfällen.

Die Symptome der Vergiftung äußerten sich nach einer Latenz von ca. 4 Tagen in schweren, persistierenden Kopfschmerzen, Vertigo, Sehstörungen, Photophobie, psychischen Störungen, Erbrechen, schnellem Gewichtsverlust, Urinretention und Hypothermie. Bei schweren Fällen zeigte sich ein Meningismus, Paresen, sowie ein Papillenödem, nichtfocale EEG-Veränderungen und ein erhöhter Liquordruck als Zeichen eines Hirnödems. Zum Tode kam es im Koma durch eine Atemlähmung oder kardiale Dekompensation, manchmal während generalisierter Krampfzustände.

Die Autopsie erbrachte neben einem Hirnödem sowie einer leichten endothelialen Proliferation der kleinen Venen, manchmal begleitet von einer Thrombosierung derselben und kleinen perivenösen Hämorrhagien, keinen Hinweis auf weitere Läsionen.

Die Überlebenden zeigten eine nur sehr langsame Rekonvaleszenz. Nach Jahren waren noch rezidivierende Kopfschmerzattacken, Teilparesen, Inkontinenz, Parästhesien und Visusverluste bei einigen der Vergifteten festzustellen. Da sich eine Behandlung mit Dimercaprol (BAL) als zwecklos erwies, bestand die einzig hilfreiche Therapie in symptomatischen Maßnahmen und einer chirurgischen Dekompression des Hirnödems.

HORACEK und DEMCIK berichteten 1970 (182) von fünf kombiniert respiratorisch-digestiven Vergiftungsfällen durch das Triphenylzinnacetat-haltige "Brestan".
Es zeigten sich in allen diesen Fällen gastrointestinale Irritationen, in einem Fall eine Leberschädigung.

PROLL und ROMPEL untersuchten im gleichen Jahr vier Intoxikationsfälle mit Äthylzinn-Verbindungen und "Stalinon"-ähnlicher Symptomatik vornehmlich unter neurologischen Gesichtspunkten (380). In den vier Fällen wird übereinstimmend von Kopfschmerzen, Photismen, Übelkeit, Erbrechen, Schwindel und pathologischen EEG-Befunden berichtet. Nur in einigen der Fälle konnten Befunde wie Stauungspapille, Quadrantenanopsie, Visusminderung, Somnolenz, tonisch-klonische Krämpfe

mit Zungenbiß, retrograder Amnesie und Halbseitensymptomatik beobachtet werden.

6.5.4. *Antidote*

Triorganozinn-Verbindungen reagieren im Gegensatz zu Diorganozinn-Verbindungen nicht mit Thiolen und können folglich nicht durch Dimercaprol oder Penicillamin inaktiviert werden (18, 21,24,29). Auch $Na_2S_2O_3$ und Ca- Na_2- EDTA zeigen keinen therapeutischen Effekt, wie BECKER 1973 (29) ermittelte.
Nach neueren Untersuchungen (297, 452) verringert Dexamethason die Mortalität und Ausbildung des Gehirnödems im Tierexperiment bei mit Triäthylzinn behandelten Ratten und Kaninchen. Auch soll der Triäthylzinn-Gehalt des Gehirnes, der Leber und des Blutes herabgesetzt sein (452). Eine ähnliche Wirkung wird auch für Glycerin genannt (378).

6.5.5. *Aufnahme, Verteilung und Ausscheidung der Triorganozinn-Verbindungen*

Vom Körper aufgenommenes Triäthylzinn wird in relativ hoher Konzentration in der Leber und den Erythrozyten wiedergefunden (18,47,83,378). Aber auch die im Gehirn gefundene Konzentration ist direkt abhängig von der applizierten Dosis (83).

ROSE und LOCK fanden, daß Triäthylzinn von einer Proteinfraktion der Leber zu ca. 70 % gebunden wird (401).

Nach FISH, KIMMEL und CASIDA (123) wird Tributylzinn durch ein Cytochrom-p450-abhängiges Monooxygenase-System hauptsächlich in korrespondierende Hydroxybutyldibutylzinn-Derivate umgewandelt.

Nach CASIDA (69) werden Triorganozinn-Verbindungen von den Lebermikrosomen enzymatisch zu den korrespondierenden Dialkylzinn-Verbindungen abgebaut. Hierzu ist NADPH erforderlich.
Der Abbau erfolgte um so schneller, je kürzer die Alkylreste sind.

Bei den Fentinen (Triphenylzinn-Verbindungen) die in besonderem Umfang in der Landwirtschaft Verwendung finden, konnte eine

Anreicherung dieser Substanzen in der Nahrungskette Pflanze - Tier - Mensch in verschiedenen Untersuchungen nicht festgestellt werden (18,50,171,416,417).

BARNES, BULL und POLLER beschrieben 1973 (25) den photochemischen Abbau von Triphenylzinn über Diphenylzinn und Monophenylzinn im Erdboden.

Eine Gefährdung durch Fentine, die in der Behandlung von Textilien angewandt werden, ist nicht zu erwarten, da sie nur in sehr geringem Umfang durch menschlichen Schweiß und Speichel aus diesen herauslösbar sind (145).

Neben dem ausgeprägten Eigengeruch besitzen Triorganozinn-Verbindungen eine ätzende Wirkung und durch ihr Löslichkeitsverhalten eine erhebliche Tiefenwirkung auf Haut und Schleimhäute (235,414).

ZELLER (32,353) beobachtete eine starke Hautdegeneration und Pigmentation verursacht durch Tributylzinn. Über die Hautirritierenden Eigenschaften von Tributylzinn wird auch von anderen Autoren (18,21,23,24,29,108,249,297,301,414) berichtet. Tributylzinn, ins Auge von Kaninchen appliziert, bewirkt nicht nur eine starke lokale Destruktion, sondern auch die systemischen Effekte einer Tributylzinn-Vergiftung (362).

Durch Triphenylzinn (Brestan^R) kann bei Ratten, Katzen und Kaninchen bei Inhalation eine Irritation muköser Membranen hervorgerufen werden (18); die dermale Toxizität ist jedoch gering (249,447).

6.6. *TOXIKOLOGIE DER TETRAORGANOZINN-VERBINDUNGEN*

Die Tetraorganozinn-Verbindungen verhalten sich wie ihre entsprechenden Triorganozinn-Verbindungen, erfordern zur Provokation des Vergiftungsbildes jedoch höhere Dosen. Die Vergiftungserscheinungen treten erheblich verzögert auf (18,21,83,378).
Wie die Triorganozinn-Verbindungen bewirken sie auch eine Erhöhung der SGPT (67).

Niedermolekulare Tetraalkylzinn-Verbindungen wie Tetramethylzinn, führen sofort zu einer,allerdings reversibelen, Paralyse und mit Verzögerung zu einer Enzephalopathie (193, 418).
Nach BARNES und STONER beherrscht bei Tetramethylzinn-Vergiftungen, anders als bei den anderen Tetraalkylzinn-Verbindungen, Tremor und Hyperreflexie das Vergiftungsbild (24).
Allgemein haben die Tetraorganozinn-Verbindungen bei hoher Flüchtigkeit einen uncharakteristischen Geruch (251,297).
Wie CREMER 1957 zeigte (83), werden die Tetraorganozinn-Verbindungen in der Leber zu den korrespondierenden Triorganozinn-Verbindungen abgebaut, die allein für die toxische Wirkung der Substanz verantwortlich sind (39, 193, 294). Die höchste Umwandlungsaktivität wurde in der klaren Überstandsfraktion und der Mikrosomenfraktion von Leberhomogenaten gefunden. Wahrscheinlich ist die Umwandlung über einen oxydativen Mechanismus enzymatisch bedingt. Die Umwandlungsreaktion kann durch SKF-525-A (2-diäthylaminoäthyldiphenylpropylacetat Hydrochlorid) in vivo und in vitro gehemmt, aber nicht verhindert werden. Zur maximalen Aktivität benötigt die Reaktion Nikotinamid, Magnesiumsulfat und Triphosphopyrin-Nukleotide als Cofaktoren (83).
Von ZEMAN u.a. (519) wurden vier Fälle von Tetraalkylzinn-Vergiftungen beschrieben. Die Vergiftungen äußerten sich hauptsächlich in rezidivierenden Kopf- und Augenschmerzen, einer vegetativen Labilität, Bradykardien, Hypertonie, Arrhythmien, Übelkeit, Appetitlosigkeit und Erbrechen.

B: *Eigene Untersuchungen*

1. *FRAGESTELLUNG*

In Kenntnis der beschriebenen Literaturdaten über Alkylzinn-Verbindungen und insbesondere im Hinblick auf die neueren Befunde einer Beeinflussung des lymphatischen Systems, als Träger der Immunreaktion durch die Dialkylzinn-Verbindungen, war es Aufgabe der eigenen experimentellen Untersuchungen an einem geeigneten Modell die Toxizität und Embryotoxizität mehrerer viel benutzter Stoffe dieser Gruppe zu prüfen. Zugleich sollte hiermit der Versuch unternommen werden, mehr über den möglichen Wirkmechanismus von Dialkylzinn-Verbindungen zu erfahren.

Die in den letzten Jahren anhaltende Diskussion über die Notwendigkeit der Tierversuche in der konventionellen Form und vor allem deren Ersatz durch sogenannte "alternative Methoden" war willkommener Anlaß, mit dem Untersuchungsprogramm über Organozinnverbindungen, zudem unter dem Aspekt von Einflüssen auf das lymphatische System als Träger der Immunreaktion, die Möglichkeiten zu prüfen, die in einer Nutzung des Hühnereies (Hühnerembryo) bzw. von Hühnerküken für pharmakologisch-toxikologische Prüfungen gegeben sind.

Daher dienten als Versuchsmodell für alle Untersuchungen, über die in dieser Arbeit berichtet wird, Hühnereier und junge Hühnerküken (Eintagsküken).

Die eigenen Untersuchungen gliedern sich in verschiedene Abschnitte, die jeweils unterschiedliche Ziele verfolgen:

BI : Bestimmung einer akuten, oralen Toxizität der Prüfsubstanzen (LD_{50})

BII : Bestimmung einer subakuten, oralen Toxizität der Prüfsubstanzen (Fütterungsversuch über 14 Tage)

BIII: Untersuchungen zum Einfluß der Prüfsubstanzen auf die embryonale Entwicklung (Embryoletalität, Embryotoxizität, Teratogenität)

2. *DAS HÜHNERKÜKEN ALS VERSUCHSTIER*

Nur bei Vögeln sind zwei primär lymphatische Organe, Thymus und Bursa Fabricii anatomisch klar definiert. Zudem sind Hühnerküken aus genetisch determinierten Stämmen recht einheitlich, preiswert und leicht in größerer Anzahl zu erhalten.

Mögliche Nachteile können aus der strengen sozialen Hierarchie entstehen, wenn Hühner in Gemeinschaftskäfigen gehalten werden, aus der individuell unterschiedlicher Futterkonsum und somit ungleiche Entwicklung der einzelnen Tiere resultiert (77).

Bei der Haltung der Hühnerküken in den eigenen Untersuchungen wurde dies berücksichtigt.

3. *DIE PRIMÄR LYMPHATISCHEN ORGANE*

3.1. *Anatomie des Thymus und der Bursa Fabricii des Huhnes:*

Der Thymus des Hühnerkükens liegt in Form von ca. acht ovalen, flachen Läppchen beidseits am Hals, lateral der Vena jugularis unter der Haut eingebettet in lockerem Bindegewebe.
Das Organ läßt sich gut von dorsal präparieren und ist beim 18 Tage alten Küken leicht von dem umgebenden Binde- und Fettgewebe zu trennen, während er kurz nach dem Schlupf mit diesem noch recht fest verbunden ist. Einzelne Thymuslappen können bis tief in den Thorax hinabreichen.

Die Bursa Fabricii, welche am 5. oder 6. Tag der Bebrütung als zunächst solider Höcker aus der Dorsalwand des Urodaeum entsteht und im Laufe der Entwicklung eine Verbindung zum Proctodaeum der Cloake erhält, stellt das zweite primär lymphatische Organ der Vögel dar.
Die Präparation gelingt recht einfach durch eine, durch die Querspaltung des Ligamentum anococcygeum geschaffene Eröffnung der Bauchhöhle, durch welche die Bursa Fabricii oft schon spontan nach außen hervortritt.
Da, wie NIEUWENHUIS (349) durch Bursektomie an jungen Küken feststellte, die Bursa einen ausschlaggebenden Einfluß auf die Entwicklung des B-Zellsystems nur während der ersten 7 - 10 Tage nach Schlupf hat, wurde die Behandlung mit Organozinn-Verbindungen noch während dieses "kritischen" Zeitraumes begonnen.

3.2. *Ontogenese der primär lymphatischen Organe beim Huhn und Menschen (129,130,177,293,329,347,479,511):*

Ontogenetisch betrachtet ist der Thymus eine paarige Ausstülpung des Entoderms der 3. und 4. Schlundtasche, die beim Menschen erstmals in der 6. Embryonalwoche sichtbar ist. Wahrscheinlich wandern während der weiteren Embryonalentwicklung, etwa vom Beginn des 3. Embryonalmonats an, Stammzellen aus dem

mesodermalen Mesenchym als Ursprung der späteren lymphoiden Thymuselemente in den Thymus ein (Immigrationstheorie). Eine andere Theorie (Transformationstheorie) geht aus von der Transformation des Epithels des embryonalen Thymus in Stammzellen, ist jedoch nicht in Übereinstimmung mit der These eines gemeinsamen extrathymischen Vorläufers für Thymozyten und extrathymische Lymphozyten zu bringen (177,293,329,347, 479).
Der Zeitpunkt der ersten Thymuseinflüsse auf die Entwicklung der Immunität ist noch unbekannt. Bekannt ist aber, daß der menschliche Foetus von der 20. Woche der Gestation an IgG und IgM produziert und nun schrittweise die Fähigkeit erlangt, auf verschiedene Antigene zu reagieren.
Zwischen der 25. und 28. Woche der Gestation erreicht der menschliche Thymus bezogen auf das Körpergewicht ein Größenmaximum, woran sich schon vor der Geburt ein relativer Rückgang der Größe anschließt.
Das Geburtsgewicht des menschlichen Thymus liegt zwischen 10 und 15 g, doch steigt die Zellzahl des Thymus nach der Geburt in der ersten und zweiten Woche rasch an (bis auf das 32-fache) und der mitotische Gesamtindex des Organs erreicht am Ende der 1. Lebenswoche ein Maximum. Das höchste Gewicht erreicht der menschliche Thymus vor der Pubertät mit 30-40 g. Daraufhin schließt sich eine allmähliche Rückbildung des Organs und ein teilweiser Ersatz durch Fettgewebe an (Pubertätsinvolution).
Die relative Größe des Thymus im frühen und sehr frühen Lebensalter mag dafür sprechen, daß das Organ wesentliche Aufgaben zu dieser Zeit erfüllt.

Beim Hühnerembryo beginnt die Entwicklung von Thymus und Bursa Fabricii zusammen mit anderen endokrinen Drüsen zwischen dem 5. und 6. Bebrütungstag und am 10. Tag der Bebrütung erreicht das Thymusgewicht ein auf das Körpergewicht bezogenes Maximum, da zwischen dem 10. und 21. Tag das Wachstum des Thymus langsamer fortschreitet, als das des gesamten Embryos. DIMITRIEVA (97) fand, daß das Thymusgewicht von Embryonen, die am 21. Tag der Bebrütung im Ei, bei sonst normaler Körperentwicklung, abgestorben waren, erheblich herab-

gesetzt war. Histologisch fand sich eine normale Struktur ohne Hinweise auf eine vorzeitige Involution oder Veränderung der Cortex-Medulla-Relation.

3.3. *Funktion des Thymus und der Bursa Fabricii*

Obwohl schon viele Teilaspekte bekannt sind, bestehen noch immer Unklarheiten über die genaue Funktion von Thymus und Bursa Fabricii.
Als mögliche Funktionen des Thymus werden diskutiert:
- Förderung der Stammzelldifferenzierung,
- Stimulation der Teilungsaktivität der mittleren und großen Lymphozyten,
- Mobilisation peripherer Lymphozyten und Förderung ihrer Rezirkulation sowie
- "Hilfsfunktion" bei der Ausbildung "immunologischer Kompetenz", bzw. bei der Entwicklung und Überwachung immunologischer Toleranz (129,130,177,293,329,511).

Die Bursa Fabricii spielt für die Entwicklung des sogenannten B-(abhängigen) Immunsystems eine besondere Rolle, d.h. den Ablauf der humoralen Immunreaktionen.

Weitreichende Kenntnisse über die Funktionen des T-abhängigen und B-abhängigen Immunsystems erlangte man aus der menschlichen Pathologie wie Thymusaplasien (DiGeorge-Syndrom, Nezelof-Synfrom), Agammaglobulinämien (Schweizer Typ, Typ Bruton), Thymushyperplasien (bei Myasthenia gravis, Lupus erythematodes), Thymusneoplasien (Thymome, bestimmte Leukosen) und aus als solchen erkannten Autoimmunkrankheiten, sowie aus Versuchen mit Thymusimplantationen, Thymusextraktinjektionen und Thymektomien und Bursektomien an geeigneten Tierspezies unter verschiedenen Bedingungen (u.a. 177,293,329,511).

3.4. *Bursektomie und Thymektomie bei jungen Vögeln*

Eine Beeinflussung der Bursafunktion kann sowohl chirurgisch als auch auf chemischem Wege erreicht werden, wie beispielsweise durch die Applikation von Steroidhormonen (z.B. 19-Nortestosteron am 5. Bebrütungstag (327,358) oder Testosteron oder Diäthylstilbestrol am 3. Bebrütungstag (143)) ins Hühner-

ei. Diese Methoden haben aber die Nachteile einer hohen Mortalität, einer allgemeinen prae- und postnatalen Wachstumshemmung und einer Störung der anatomisch korrekten und funktionsgerechten Entwicklung der Cloake. Die chirurgische Bursektomie (neonatal oder bereits in ovo) (129) hat zwar den Vorteil einer niedrigeren Mortalität und einer ungestörten Cloakenfunktion, doch kommt es manchmal zur Regeneration des lymphatischen Gewebes. Sie ist auch erst zu einem Zeitpunkt möglich, an welchem möglicherweise bereits Zellen in andere lymphatische Gewebe abgewandert sind.

Die chemische Thymektomie bei Vögeln durch Eintauchen von Eiern in Steroid-Lösungen erreicht nur bei ca. 10 % der Tiere eine komplette Atrophie des Thymus (329) und führt, da der Thymus weniger empfindlich ist als die Bursa Fabricii, immer zu einer zusätzlichen Mitschädigung derselben (177,327).

Die chirurgische Thymektomie kann erst nach dem Schlupf, d.h. recht spät, durchgeführt werden und ist technisch schwierig, da die caudalen Thymuslappen oft tief intrathorakal und in nächster Nachbarschaft des Thyroidea-Parathyroidea-Komplexes liegen. Der Zeitpunkt, zu dem die Thymektomie spätestens erfolgt sein muß, um einen "thymopriven Effekt" beobachten zu können, ist zudem von Spezies zu Spezies unterschiedlich.

Substanzen, die zu einer Involution, Atrophie oder primär vermindertem Wachstum des Thymus führen, sind seit langem bekannt. Für einige Steroidhormone, Stickstofflost und 7,12-Dimethylbenzanthracen sind derartige Effekte beschrieben. Auch ist eine Thymusinvolution unter Streßbedingungen, dem Einfluß ionisierender Strahlung, Proteinmangel und durch den Mangel an einem der Vitamine A, B_1, B_2, B_6, C, Panthothensäure und Cholin beobachtet worden (293).
Eine erhebliche, bei Nahrungsentzug und bei Hypoprotein auftretende Thymusinvolution ist schon lange bekannt und geht mit entsprechender Verminderung von Leistungen des Immunsystems einher. So wurde an Vögeln eine Reduktion des auf das Körpergewicht bezogenen Thymusgewichtes von 70 % nach einer Körpergewichtsabnahme um etwa ein Drittel (293) an Kaninchen von 81 % nach zweiwöchiger und 97 % nach vier-

wöchiger chronischer Unterernährung (konstantes Gewicht in der Wachstumsphase) und von 49 % nach 4-tägiger und 73 % nach 9-tägiger völliger Nahrungskarenz beschrieben (203).

4. VERSUCHSBEDINGUNGEN

4.1. Tiermaterial und Haltung:

Alle eigenen Untersuchungen wurden an männlichen Küken der weißen Leghornrasse eines gleichen, genetisch kontrollierten Zuchtstammes (Shaver Star Cross 288) durchgeführt, die am Schlupftage von einem gewerblichen Zuchtbetrieb (J. Brinkschulte, Gut Aversfeld, Senden/Westf.) bezogen wurden.
Die Haltung von je 10 Tieren erfolgte unter standardisierten Bedingungen in nach oben offenen Kunststoffkästen der Größe 75 x 55 x 25 cm, auf Altromin^R- Einstreu für Labortiere. In der Höhe von 75 cm über dem Kastenboden war für je zwei Kükenkästen ein Siccatherm^R - Infrarot-Heizstrahler angebracht. Die Raumtemperatur betrug 32 ±2° C. Frisches Wasser und Kükenalleinfutter KAP 57 (Hersteller: Höveler) stand den Tieren ad libitum zur Verfügung.
Der Beginn der Versuche erfolgte am dritten Tag nach Schlupf, da die Tiere bis dahin ihren Dottersack zum größten Teil resorbiert haben und um bis dahin kranke und durch den Schlupf vorgeschädigte Tiere aussortieren zu können.

4.2. Prüfsubstanzen

4.2.1. DIMETHYLZINN-DICHLORID (DMTC)

```
             Cl
             |
  CH3   -    Sn   -   CH3
             |
             Cl
```

MOLEKULARGEWICHT: 219,76
SUMMENFORMEL: $C_2H_6SnCl_2$
SCHMELZPUNKT: über 100 °C
nach Literaturangaben: 107 - 108 °C (17,103,193,259,367,378)
SIEDEPUNKT: 185 - 190 °C bei 760 mmHg (103,193,378)

PHYSIKALISCHE UND CHEMISCHE EIGENSCHAFTEN:

In festem Zustand bildet DMTC rhombische Kristalle.
In Wasser gelöst dissoziiert DMTC fast vollständig, wobei die entstehenden Lösungen sauer sind. Während DMTC in festem Zustand ein schlechter Leiter ist, wird es in gelöstem Zustand zu einem guten Elektrolyten.
DMTC kann mit verschiedenen Substanzen Komplexe bilden (10,193).

ANWENDUNGSGEBIETE:

Anwendung findet DMTC -
- bei der Vergütung von Glasoberflächen (39)
- als Urethan - Katalysator (375)
- als Korrosionshemmer für Mg und Mg-Verbindungen (103).

4.2.2. DIÄTHYLZINN-DICHLORID (DETC)

$$\begin{array}{ccccc} & & Cl & & \\ & & | & & \\ C_2H_5 & - & Sn & - & C_2H_5 \\ & & | & & \\ & & Cl & & \end{array}$$

MOLEKULARGEWICHT:	247,8
SUMMENFORMEL:	$C_4H_{10}SnCl_2$
SCHMELZPUNKT:	83-85 ^{o} C
nach Literaturangaben:	83 - 106 ^{o} C (17,46,103.193,343, 367,395,95)
SIEDEPUNKT:	277 ^{o} C bei 760 mmHg (103,193) 117-125 ^{o} bei 12 mmHg (103).

PHYSIKALISCHE UND CHEMISCHE EIGENSCHAFTEN:

In festem Zustand bildet DETC rhombische Kristalle.
Seine Leitereigenschaften entsprechen denen des DMTC (193).
Bei Raumtemperatur sublimiert DETC bereitwillig.
DETC ist zu mehr als 1200 g/l in Wasser löslich, wobei es in dissoziierter Form vorliegt und eine farblose Lösung bildet. In alkalischer Lösung bildet es polymeres Dimethylzinn-Oxid, welches ausfällt (142,395).
DETC kann mit verschiedenen Substanzen Komplexe bilden (193).

ANWENDUNGSGEBIETE:
Anwendung findet DETC -
- als Anthelminthikum, bevorzugt bei Vögeln (149,240).
  (Dosierung: 75 - 100 mg/kg)
- als Ausgangssubstanz zur Herstellung
  - anderer Diäthylzinn-Verbindungen (193)
  - von assymetrischem Tetraalkylzinn (58)
  - von Dihalotetraalkylzinn (200).

DETC kann als Abbauprodukt verschiedenster Diäthylzinn-Verbindungen entstehen. Nach PFEIFFER (520) reagieren diese zunächst mit dem Luftsauerstoff zu Diäthylzinn-Oxid, welches durch Halogenwasserstoffe (z.B. HCl) zum korrespondierenden Dialkylzinn-Halogenid (in diesem Falle DETC) umgewandelt wird.

4.2.3. *DIBUTYLZINN-DICHLORID (DBTC)*

$$
\begin{array}{ccccc}
 & & Cl & & \\
 & & | & & \\
C_4H_9 & - & Sn & - & C_4H_9 \\
 & & | & & \\
 & & Cl & &
\end{array}
$$

MOLEKULARGEWICHT:	303,88
SUMMENFORMEL:	$C_8H_{18}SnCl_2$
SCHMELZPUNKT:	39-41 °C
nach Literaturangaben:	37 - 45 °C
SIEDEPUNKT:	153 - 156 °C bei 5 mmHg (103,193, 229,307,367,377,378,520)
	140 - 143 °C bei 1 mmHg (378)
	89 - 91 °C bei 0,2 mmHg (378).

PHYSIKALISCHE UND CHEMISCHE EIGENSCHAFTEN:
DBTC ist eine farblose kristalline Substanz, die in Kontakt mit Luft schnell trübe wird. In organischen Lösungsmitteln ist DBTC gut, in polaren Lösungsmitteln nur schwer löslich (367).
Im alkalischen Milieu reagiert DBTC zum polymeren DBT-oxid (103).

DBTC hat einen starken charakteristischen Geruch.
Mit C_5H_5N kann DBTC als Komplex vorliegen (193).

ANWENDUNGSGEBIETE:
Anwendung findet DBTC -
- als Ausgangssubstanz zur Herstellung verschiedener Dibutylzinn-Verbindungen, die als Kunststoffstabilisatoren, Anthelminthika, Katalysatoren etc. weitreichende Verwendung finden und zumeist auch zum DBTC dekompensieren (106,193,304, 305).
- als Urethan - Katalysator (103,375)
- als nichtfärbendes Antioxydationsmittel in Gummi (103,468)
- als Katalysator bei der Polyesterherstellung (10,65) und Olefin-Dimerisation (378)
- als Anthelminthikum, bevorzugt bei Vögeln (72,240,412) (Dosierun g: 3 x 30 mg/kg)
- als Fungicid und Bactericid (103)
- als PVC-Stabilisator (103).

4.2.4. DIOCTYLZINN-DICHLORID (DOTC)

Cl
|
C_8H_{17} - Sn - C_8H_{17}
|
Cl

MOLEKULARGEWICHT: 416,04
SUMMENFORMEL: $C_{16}H_{34}SnCl_2$
SCHMELZPUNKT: 48 - 49 °C
nach Literaturangaben: 45,5 - 48,5 °C (103,193,234)
SIEDEPUNKT: 164 - 165 °C bei 0,16 mmHg (103,193)
175 °C bei 1 mmHg (103).

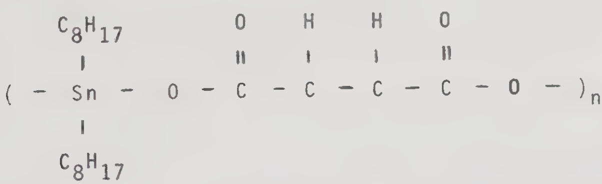
PHYSIKALISCHE UND CHEMISCHE EIGENSCHAFTEN:
DOTC ist eine kristalline Substanz mit einem starken charakteristischen Geruch, die allgemein in organischen Lösungsmitteln gut, in polaren Lösungsmitteln dagegen nur in sehr geringer Konzentration löslich ist.

ANWENDUNGSGEBIETE:

Anwendung findet DOTC -

- als Ausgangssubstanz zur Synthese verschiedener Dioctylzinn-Verbindungen, die als Stabilisatoren in Kunststoffen mit Nahrungsmittelkontakt Verwendung finden und nachweislich zum DOTC dekompensieren
- als Mittel zur Parasitenkontrolle bei Säugern und Vögeln (71, 72,149)
  (Dosierung: Ca. 3 x 150 mg/kg) (103,169)
- als PVC-Stabilisator (103)
- als Fungicid (103).

4.2.5. *DIOCTYLZINN-MALEINAT*



andere Bezeichnung: Di-octyl-zinn-cis-buten-dioat-polymer

MOLEKULARGEWICHT: 459,06

SUMMENFORMEL: $C_{20}H_{36}O_4Sn$

SCHMELZPUNKT: 26 - 28 ^{o}C $\quad d^{20}$: 1,15

SIEDEPUNKT: $\quad n_D^{20}$: 1,485 (478).

PHYSIKALISCHE UND CHEMISCHE EIGENSCHAFTEN:

DOTMal wird aus der Schmelze von Dioctylzinn-Oxid und Maleinsäureanhydrid gewonnen (234).

DOTMal ist eine hochvisköse Flüssigkeit, die bei Raumtemperatur langsam auskristallisiert. Nach PIVER (193) sind alle Organozinn-Alkoxide destillierbare Flüssigkeiten oder Feststoffe mit einem definierten Schmelzpunkt.

DOTMal ist in Wasser schlecht, in einigen organischen Lösungsmitteln besser löslich.

So beispielsweise	in H_2O	:	6.6 mg/100 ml,
	in C_2H_5OH (40%)	:	8 mg/100 ml,
	in C_3COOH (8%)	:	8,4 mg/100 ml,
	in C_3COOH (50%)	:	432 mg/100 ml,
	in C_2H_5OH (96%)	:	4970 mg/100 ml,
	in Tafelöl	:	5080 mg/100 ml (185).

ANWENDUNGSGEBIETE:

DOTMal ist ein bekannter Stabilisator in Kunststoffen und ist auch in den Empfehlungen der Kunststoffkommission des Bundesgesundheitsamtes für Verpackungsmaterial von Nahrungsmitteln aufgeführt (59). DOTMal kommt demnach auch in einer größeren Anzahl von Handelsprodukten vor.
Weiterhin findet DOTMal Anwendung im Silikon-Herstellungsprozeß.

BI: *Bestimmung der akuten, oralen Toxizität* (LD_{50})

1. *ZUBEREITUNG UND APPLIKATION DER SUBSTANZEN*

Die Substanzen wurden in der gewählten Konzentration in 1%-iger L-Tylose, deren hohe Viskosität eine stabile und gleichmässige Verteilung auch bei mangelnder Löslichkeit erlaubt, gelöst bzw. suspendiert.

Während die Dimethylzinn-Dichlorid- und die Diäthylzinn-Dichlorid-Suspensionen sich als sehr gleichmässig erwiesen, konnte bei Dibutylzinn-Dichlorid, Dioctylzinn-Maleinat und besonders Dioctylzinn-Dichlorid nur dadurch eine stabile Verteilung der Substanz in der Tylose erreicht werden, daß die Suspensionen mittels eines Magnetrührers in ständiger Bewegung gehalten wurden. Auch Dimethylzinn-Dichlorid und Diäthylzinn-Dichlorid wurden, um eine optimale Durchmischung zu erlangen, durch den Magnetrührer während der Applikationsdauer in ständiger Bewegung gehalten.

Je 10 Küken erhielten am dritten Tag nach dem Schlupf Suspensionen der Substanzen in unterschiedlichen Dosierungen intragastral mit einer Schlundsonde (8 cm langer Gummiabsaugkatheter der Größe 0). Fehlsondierungen wurden nicht beobachtet. Bei keinem der Tiere ergab die spätere Besichtigung von Ösophagus und Kropf am Versuchsende Hinweise auf Verletzungen dieser Organe durch die Sondierung. Die Tiere wurden eine Woche lang beobachtet und das Gewicht am Tage der Applikation und nach einer Woche registriert.
Vorzeitig gestorbene Tiere wurden hinsichtlich des Zeitpunktes des Todes erfaßt; eine Verwendung der Organe solcher Tiere ist wegen der raschen Autolyse nur in Einzelfällen möglich.
Das applizierte Volumen betrug stets 10 ml/kg Körpergewicht (KG) bei Dimethylzinn-Dichlorid, Diäthylzinn-Dichlorid und Dibutylzinn-Dichlorid sowie 20 ml/kg KG bei Dioctylzinn-Dichlorid und Dioctylzinn-Maleinat.

2. *ERGEBNISSE:*

Die Ergebnisse der Bestimmung der akuten Toxizität sind auf den folgenden Seiten tabellarisch und graphisch dargestellt.

Tabelle B I - 1. Akute Toxizität einiger Dialkylzinn-Verbindungen am Hühnerküken

SUBSTANZ	Dosis mg/kg	AUSFÄLLE Tage nach Appl. 0,5	1	2	3	4	5	6	Summe (%)	GEWICHT (g) zu Beginn $\bar{x}$	SD	SE	am 7. Tag $\bar{x}$	SD	SE	Zunahme (%)
DMTC	25								0	46,5	2,9	0,9	74,7	5,1	1,6	+ 61
	50						1		10	45,5	4,0	1,3	65,0	12,0	4,0	+ 43
	75						2		20	45,9	3,6	1,1	65,0	6,1	2,2	+ 42
	100				1	2	2		50	45,3	2,0	0,6	60,0	11,1	5,0	+ 32
	125			1	3			1	50	47,0	2,7	0,8	51,2	7,7	3,5	+ 9
	150			2	1	2	1		60	39,5	3,0	1,0	65,0	8,7	4,4	+ 65
DETC	50								0	44,5	3,2	1,0	73,6	10,6	3,3	+ 65
	100								0	45,7	3,5	1,1	73,4	3,0	0,9	+ 61
	150				1				10	45,0	3,2	1,0	75,8	7,4	2,5	+ 68
	200		1	1	1				30	44,5	2,7	0,8	72,5	9,9	3,5	+ 63
	250	1		3					40	44,1	3,1	1,0	72,2	6,0	2,7	+ 64
	300	1		1	2				40	46,2	4,4	1,4	66,0	16,1	6,6	+ 43
DBTC	100								0	46,7	4,1	1,3	64,5	7,2	2,3	+ 38
	125								0	47,5	4,5	1,4	61,5	10,3	3,2	+ 29
	150								0	47,4	3,1	1,0	63,2	7,7	2,4	+ 33
	175				1	1			20	45,1	1,9	0,6	53,0	4,2	1,5	+ 18
	200				1				15	45,0	2,6	0,8	54,8	4,3	1,4	+ 22
	200				2					46,5	3,2	1,0	68,6	10,2	3,6	+ 48
	250			1	1	1			30	47,0	3,2	1,0	61,6	11,0	4,2	+ 40
	300			4	2				60	46,4	4,0	1,3	64,5	8,6	3,5	+ 39
	350			2	4				60	45,6	4,4	1,4	65,3	3,0	1,5	+ 43
	400			2	2		1		50	46,9	3,4	1,1	64,3	14,0	8,1	+ 37

Tabelle B I - 1. (Fortsetzung) Akute Toxizität einiger Dialkylzinn-Verbindungen am Hühnerküken

SUBSTANZ	Dosis mg/kg	AUSFÄLLE Tage nach Appl. 0,5	1	2	3	4	5	6	Summe (%)	GEWICHT (g) zu Beginn $\bar{x}$	SD	SE	am 7. Tag $\bar{x}$	SD	SE	Zunahme (%)
DOTC	6000								0	45,2	3,0	0,9	57,4	5,1	1,6	+ 27
	7000								0	46,0	2,6	0,8	56,2	5,2	1,7	+ 22
	8000								0	45,8	4,5	1,4	65,0	5,7	1,8	+ 42
	9000								0	44,9	2,6	0,8	63,3	6,2	1,9	+ 41
	10000		1						10	45,6	3,1	1,0	62,1	5,6	1,9	+ 36
DOTMal	3000				1				10	48,3	3,7	1,2	62,8	8,5	2,8	+ 30
	3500	4				1			50	46,9	4,3	1,4	65,8	2,9	1,3	+ 40
	4000	5	2	1					80	46,4	4,3	1,4	32,5	6,4	4,5	- 30
	4500	9		1					100	45,8	3,3	1,1				
	5000	10							100	45,5	3,1	1,0				
	6000	10							100	46,9	3,4	1,1				
	7000	10							100	43,3	3,1	1,0				
	8000	9	1						100	47,5	4,1	1,3				
	9000	9	1						100	44,8	3,2	1,0				
	10000	10							100	45,2	2,3	0,7				
KONTROLLE									0	46,0	4,2	1,2	93,7	7,8	2,4	+106

Abb. 8 I - 1. Bestimmung der LD_{50} von Dimethyizinn - Dichlorid
(Darstellung der Absterberate (%) gegen die Dosis (mg/kg))

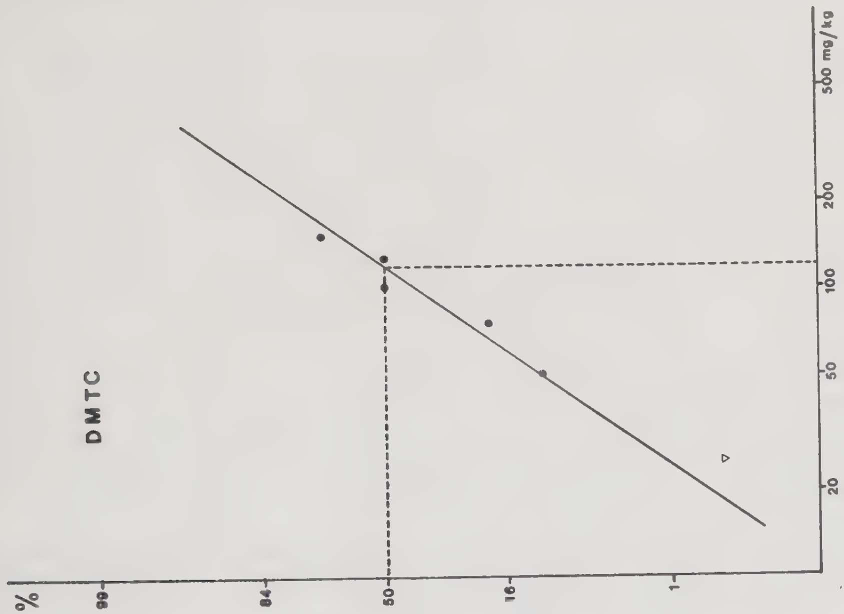


Abb. 8 I - 2. Bestimmung der LD_{50} von Diäthylzinn - Dichlorid
(Darstellung der Absterberate (%) gegen die Dosis (mg/kg))

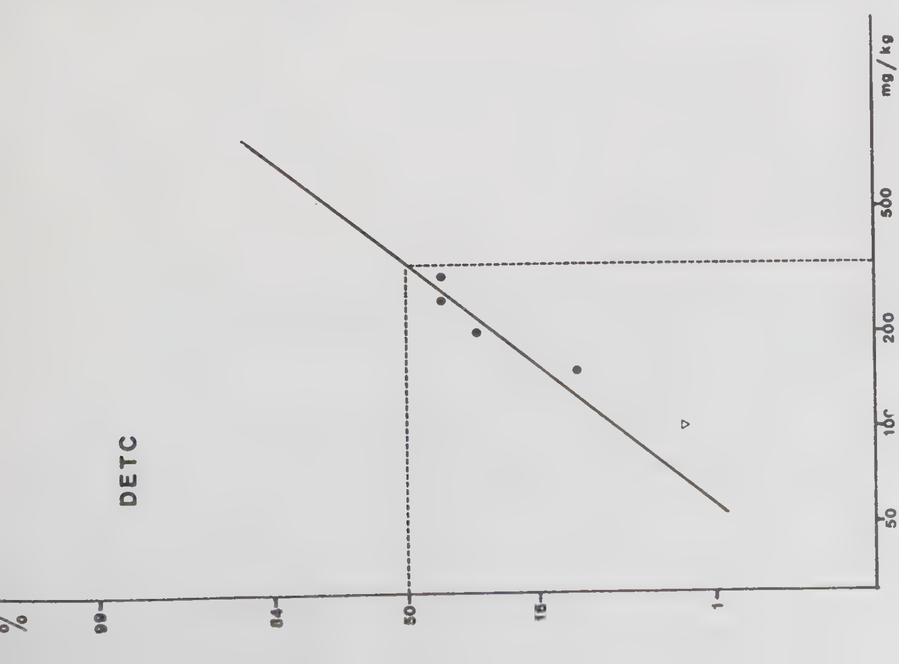


Abb. B I - 3. Bestimmung der LD_{50} von Dibutylzinn - Dichlorid
(Darstellung der Absterberate (%) gegen die Dosis (mg/kg))

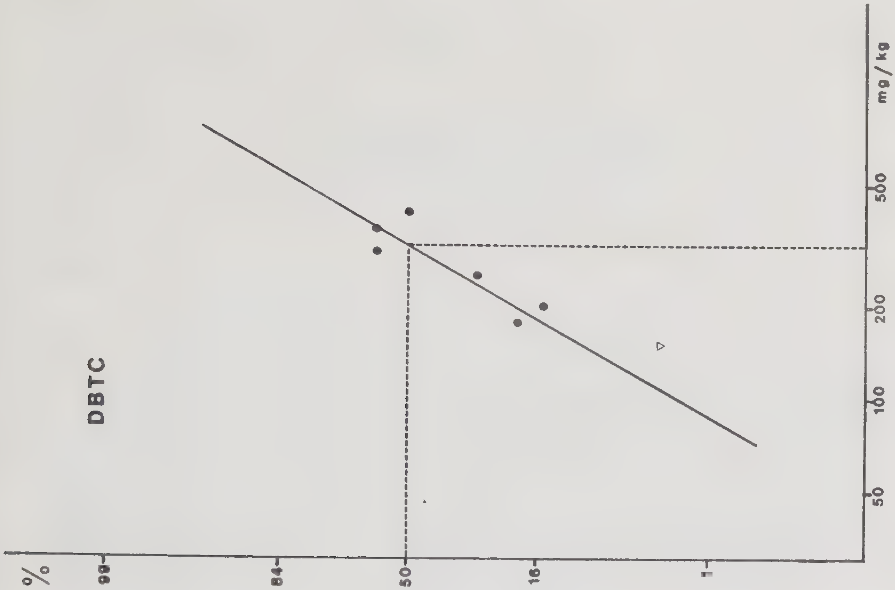
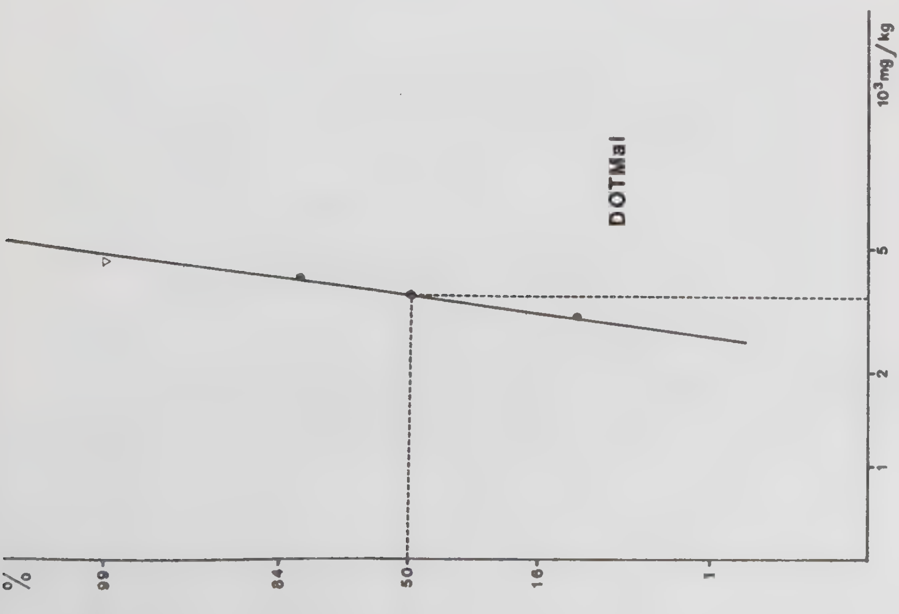


Abb. B I - 4. Bestimmung der LD_{50} von Dioctylzinn - Maleinat
(Darstellung der Absterberate (%) gegen die Dosis (mg/kg))



Aus den im Versuch gewonnenen Beobachtungsergebnissen wurde die orale LD_{50} mit der Methode nach LITCHFIELD und WILCOXON (463) bestimmt. Hierbei erwies sich DMTC als sehr und DETC sowie DBTC als weniger toxisch, während DOTMal und besonders DOTC unter diesen Bedingungen relativ untoxisch sind. Alle geprüften Verbindungen bewirken auch in subletalen Dosen eine dosisabhängige Verminderung der Körpergewichtszunahme.

DMTC: LD_{50}:120 mg/kg

obere Vertrauensgrenze: 197 mg/kg
untere Vertrauensgrenze: 73 mg/kg.

Bei einer Dosis im Bereich der LD_{50} ist von besonderem Interesse, daß die meisten Tiere erst um den 4. Tag nach der Substanzzufuhr starben (Spättoxizität). Bei Dosen von 25 bis 125 mg/kg K.G., zeigt sich eine dosisabhänge Reduktion der Gewichtszunahme von 45 - 97 % gegenüber der Kontrolle; diese Reduktion ist erstaunlicherweise bei der mit 150 mg/kg höchstdosierten Gruppe relativ gering.

DETC: LD_{50}:330 mg/kg

obere Vertrauensgrenze: 462 mg/kg
untere Vertrauensgrenze: 236 mg/kg.

Bei einer Dosis im Bereich der LD_{50} verendeten die meisten Tiere ca. 48 h nach der Substanzzufuhr.
Zwischen 50 und 250 mg/kg fand sich eine Reduktion der Gewichtszunahme von ca. 40 % gegenüber der Kontrolle.

DBTC: LD_{50}:320 mg/kg

obere Vertrauensgrenze: 384 mg/kg
untere Vertrauensgrenze: 267 mg/kg.

Bei einer Dosis im Bereich der LD_{50} verendeten die meisten Tiere erst 3 Tage post appl. (Spättoxizität).
Zwischen 100 und 400 mg/kg ergab sich eine nicht dosisabhängige Reduktion der Gewichtszunahme von 58 - 88 % im Vergleich zur Kontrollgruppe.

DOTC: Eine LD_{50} konnte nicht bestimmt werden, da die Substanz in einer höheren Konzentration als der von 10 000 mg/20 ml/kg K.G. nach dem angewandten Verfahren weder suspensierbar noch applizierbar war.
Die Dosierungen zwischen 6 000 und 10 000 mg/kg bewirkten eine nicht dosisunabhängige Reduktion der Körpergewichtszunahme von ca. 65 % im Vergleich zur Kontrollgruppe.

DOTMal: LD_{50}:3500 mg/kg

obere Vertrauensgrenze: 3 805 mg/kg
untere Vertrauensgrenze: 3 220 mg/kg.

Eine Spättoxizität konnte nicht festgestellt werden, da im Bereich der LD_{50} die meisten Tiere schon nach 12 h verendeten.

Bei 3 000 und 3 500 mg/kg fand sich eine Reduktion der Gewichtszunahme von ca. 70 % im Vergleich zur Kontrolle. Die beiden überlebenden Tiere der 4 000 mg/kg-Gruppe hatten noch eine Woche nach der Prüfsubstanzzufuhr ein niedrigeres Körpergewicht als am Tage der Applikation.

3. *VERGIFTUNGSSYMPTOMATIK:*

Unter dem Einfluß der Dialkylzinn-Verbindungen zeigten sich in höherer Dosierung bei den Versuchstieren Erscheinungen, die in einer bestimmten Reihenfolge auftragen, so daß es vertretbar erscheint, das Vergiftungsbild in Stadien einzuteilen und als allgemeingültig für alle Prüfsubstanzen zu beschreiben.

Stadium I:

Direkt nach der Applikation zeigte sich bei den Küken eine leichte Benommenheit, Schläfrigkeit und Standunsicherheit, sowie ein großes Trinkbedürfnis.
Am meisten ausgeprägt entwickelte sich dieses Stadium unter DBTC. Nach DOTC-Applikation wurden außer diesen keine weiteren Folgeerscheinungen beobachtet.

Stadium II: (Latenzphase)

Während mindestens 24 Stunden boten die Tiere ein völlig normales, unauffälliges Bild. Nur in der DOTMal-Gruppe wurden

sofort auftretende Erscheinungen beobachtet.

Statium III: (Spättoxizität)

Spätestens nach 48 Stunden zeigte sich dann aber bei fast allen Tieren der entsprechenden Gruppe eine Lähmung der hinteren Extremitäten, so daß die Tiere nicht mehr stehen konnten.
Besonders bei den Dialkylzinn-Verbindungen mit niedriger Kettenlänge kam es zu krampfartigen Bewegungen von Kopf und Extremitäten, mit einer extremen Dorsalflexion des Halses und einem, den ganzen Körper erfassenden Tremor. Die Frequenz der "Anfälle" war individuell unterschiedlich, die Anfallsdauer betrug jeweils wenige Minuten. Bei einigen Tieren war eine langsame Zunahme der Anfallsfrequenz bemerkbar.
Die Tiere waren apathisch, hielten die Augen geschlossen und machten einen schwerkranken Eindruck. Einige der Tiere produzierten während dieser Zeit wässrig-schleimige Faeces.
Eine auffällige Salivation war nicht zu bemerken.
Dieses Stadium konnte einige Tage dauern und leitete häufig über in

Stadium IV:

Die Tiere reagierten nicht mehr auf Reize und machten einen komatösen Eindruck.
Alle Tiere, die dieses Stadium erreichten, hatten durch das Unvermögen einer Nahrungs- und Wasseraufnahme stark an Gewicht abgenommen und zeigten zudem Austrocknungserscheinungen.
Dieses Stadium währte meist nur einige Stunden und endete immer mit dem Tod der Tiere.

Allgemein ist festzustellen, daß das Auftreten von Krämpfen bei den Dialkylzinn-Verbindungen mit kürzeren Alkylketten häufiger erfolgte und daß die Stärke der Lähmungserscheinungen unter DBTC ein Maximum erreichte. Unter DOTMal kam es zu einem rascheren Auftreten der Intoxikationserscheinungen nach der Applikation.
Im wesentlichen ähnelt das Vergiftungsbild am Hühnerküken dem von anderen Autoren an anderen Spezies beschriebenen Erscheinungen, doch erinnert gerade die Lähmungssymptomatik an die, welche besonders für Trialkylzinn-Verbindungen beschrieben wurde.



Abb. BI - 5:

Akute Dibutylzinn-Dichlorid-Vergiftung:
Schwäche der hinteren Extremitäten; das behandelte Küken (links) ist nicht in der Lage, aktiv zu stehen (rechts Kontrolltier).

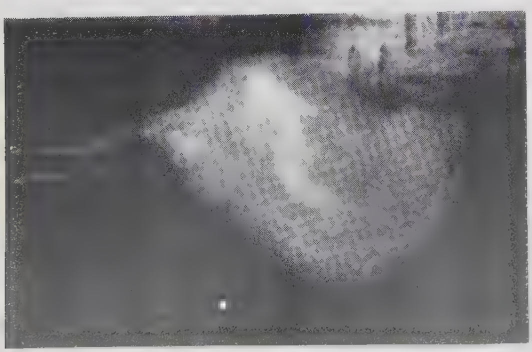


Abb. BI - 6:

Krämpfe mit Opisthotonus und Tremor

BII: Bestimmung der subakuten, oralen Toxizität

1. DOSIERUNG

Dimethylzinn-Dichlorid	(DMTC)	: 10 mg/kg
Diäthylzinn-Dichlorid	(DETC)	: 30 mg/kg
Dibutylzinn-Dichlorid	(DBTC)	: 30 mg/kg
Dioctylzinn-Dichlorid	(DOTC)	: 500 mg/kg
Dioctylzinn-Maleinat	(DOTMal)	: 500 mg/kg.

2. VERSUCHSABLAUF

Beginnend mit dem 3. Tag nach dem Schlupf erhielten alle Tiere täglich 10 ml/kg, d.h. damit ein gleiches Volumen, von Lösungen bzw. Suspensionen der Organozinn-Verbindungen in 1 %iger L-Tylose. Die Konzentration der Lösungen war so gewählt, daß die entsprechende Dosierung der Prüfsubstanzen erreicht wurde. Eine Kontrollgruppe aus 23 Tieren erhielt täglich nur 10 ml/kg der 1 %igen L-Tylose-Suspension. Das Körpergewicht aller Küken wurde täglich bestimmt. Am 15. Versuchstag wurden alle Tiere durch Dekapitation getötet. Das Gewicht des Thymus, der Bursa Fabricii, der Milz, der Leber und des Gehirnes wurde bestimmt. Blutproben zur elektrophoretischen Trennung der Serumproteine wurden entnommen.

3. ERGEBNISSE

Die Ergebnisse des Versuches sind auf den folgenden Seiten tabellarisch und graphisch dargestellt.

Tab. BII-1: KÖRPER- UND ORGANGEWICHTE VON KÜKEN NACH ZWEIWÖCHIGER FÜTTERUNG VERSCHIEDENER DIALKYLZINN-VERBINDUNGEN

Substanz	Kontrolle	DMTC	DETC	DBTC	DOTC	DOTMal
Tiere/Gruppe	23	20	20	20	20	20
Dosis/Tag		10	30	30	500	500
Gesamtdosis		140	420	420	7000	7000
LD 50(oral)		120	330	320	>10000	3500
KG bei Fütterungsbeginn (g)	46,9 ± 2,8	47,0 ± 3,2	45,2 ± 3,1	46,6 ± 2,5	46,9 ± 4,0	44,7 ±3,4
KG bei Fütterungsende (g)	154,7 ±13,5	109,3 ±28,7	150,8 ±10,0	144,5 ±10,5	125,9 ±15,2	128,8 ±7,7
Gehirn (g)	1,543± 0,086	1,325± 0,120	1,540± 0,105	1,447± 0,088	1,468± 0,102	1,455±0,099
Gehirn/100 g KG (g)	1,004± 0,101	1,294± 0,352	1,025± 0,093	1,004± 0,067	1,178± 0,121	1,147±0,071
Thymus (mg)	917 ± 161	466 ± 217	848 ± 179	625 ± 159	598 ± 136	624 ±90
Thymus/100 g KG (g)	0,590± 0,089	0,404± 0,135	0,559± 0,098	0,428± 0,091	0,473± 0,082	0,438±0,098
Thymus/g Gehirn (g)	0,596± 0,112	0,332± 0,150	0,553± 0,124	0,431± 0,106	0,406± 0,084	0,424±0,062
Bursa Fabricii (mg)	736 ± 135	387 ± 214	710 ± 160	569 ± 171	523 ± 160	454 ±101
Bursa F./100 g KG (g)	0,473± 0,063	0,337± 0,124	0,471± 0,022	0,389± 0,023	0,412± 0,104	0,352±0,076
Bursa F./g Gehirn (g)	0,478± 0,094	0,286± 0,139	0,462± 0,108	0,391± 0,108	0,356± 0,108	0,308±0,067
Milz (mg)	242 ± 73	177 ± 64	246 ± 51	200 ± 41	182 ± 58	203 ±36
Milz/100 g KG (g)	0,156± 0,040	0,159± 0,029	0,163± 0,029	0,138± 0,024	0,153± 0,039	0,158±0,029
Milz/g Gehirn (g)	0,157± 0,043	0,133± 0,047	0,160± 0,032	0,138± 0,028	0,128± 0,037	0,138±0,024
Leber (g)	4,7 ± 0,38	3,6 ± 0,85	4,8 ± 0,52	4,6 ± 0,43	4,1 ± 0,51	4,2 ±0,45
Leber/100 g KG (g)	3,036± 0,227	3,346± 0,284	3,191± 0,243	3,217± 0,240	3,223± 0,259	3,255±0,264
Leber/g Gehirn (g)	3,047± 0,332	2,707± 0,532	3,140± 0,390	3,221± 0,366	2,771± 0,346	2,850±0,305

Tab. BII - 2:

VERÄNDERUNG DER ORGANGEWICHTE DER MIT DIALKYLZINN-VERBINDUNGEN BEHANDELTEN TIERE IN % GEGEN DIE ORGANGEWICHTE DER KONTROLLGRUPPE SOWIE STATISTISCHE BEWERTUNG

Substanz		DMTC	DETC	DBTC	DOTC	DOTMal
KG-Zunahme	%	-29,3	- 2,5	- 6,6	-18,6	-16,7
Gehirn	%	-14,1	- 0,2	- 6,2	- 4,9	- 5,7
Gehirn/100 g KG	%	+28,9 a	+ 2,1	± 0,0	+17,3 a	+14,2 a
Thymus	%	-49,2 a	- 7,5	-31,4 a	-34,8 a	-32,0 a
Thymus/100 g KG	%	-31,5 a	- 5,3	-27,5 a	-19,8 a	-25,8 a
Thymus/g Gehirn	%	-44,3 a	- 7,2	-27,7 a	-31,9 a	-28,9 a
Bursa Fabricii	%	-47,4 a	- 3,5	-22,7 a	-28,9 a	-38,3 a
Bursa Fabricii/100 g KG	%	-28,8 a	- 0,4	-17,8 b	-12,9	-25,6 a
Bursa Fabricii/g Gehirn	%	-40,2 a	- 3,3	-18,2 c	-25,5 a	-35,6 a
Milz	%	-26,9 b	+ 1,7	-17,4	-25,0 c	-16,1
Milz/100 g KG	%	+ 1,9	+ 4,5	-11,5	- 0,6	+ 1,3
Milz/g Gehirn	%	-15,3	+ 1,9	-12,1	-18,5	-12,1
Leber	%	-23,4 a	+ 2,1	- 2,1	-12,7 a	-10,6 a
Leber/100 g KG	%	+10,2 a	+ 5,1	+ 6,0 d	+ 6,2 d	+ 7,2 b
Leber/g Gehirn	%	-11,2 d	+ 3,1	+ 5,7	- 9,1 d	- 6,5

a : $p < 0,001$
b : $p < 0,005$
c : $p < 0,010$
d : $p < 0,020$

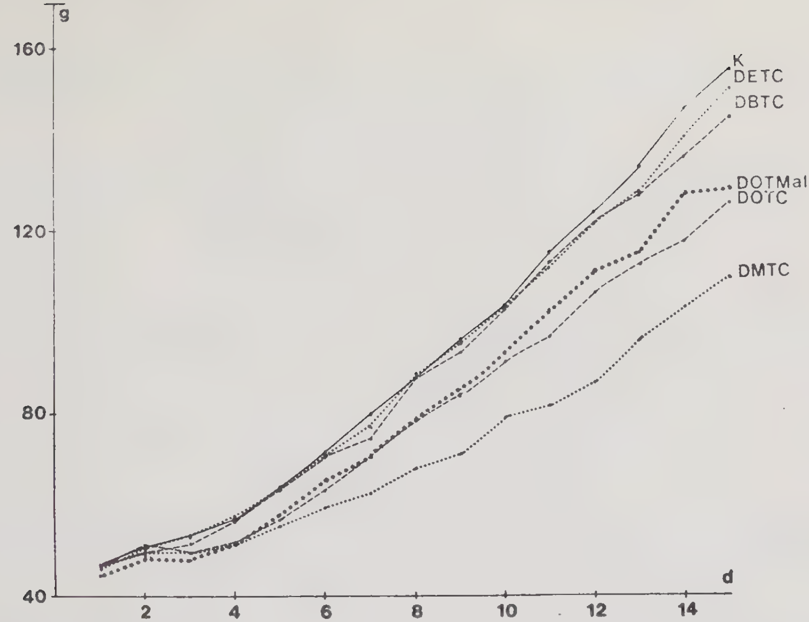


Abb. BII - 1: Körpergewichtsentwicklung von Küken unter 2-wöchiger Fütterung verschiedener Dialkylzinn-Verbindungen (K = Kontrollgruppe)

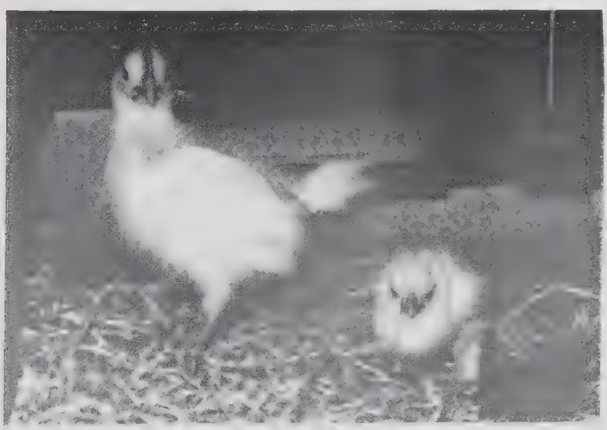


Abb. BII - 2: Das linke Küken erhielt täglich 500 mg/kg KG Dioctylzinn-Dichlorid und unterscheidet sich vom Aspekt her nicht von den Tieren der Kontrollgruppe.
Das rechte, gleichalte Küken erhielt täglich 10 mg/kg KG Dimethylzinn-Dichlorid und ist in seiner Entwicklung stark zurückgeblieben.

Abb. BII - 15: Gehirngewicht (g) nach Gabe verschiedener Dialkylzinn-Verbindungen über 14 Tage ($\overline{x}$ + SD; K = Kontrollgruppe)

Abb. BII - 16: Gehirngewicht (g) bezogen auf 100 g KG nach Gabe verschiedener Dialkylzinn-Verbindungen über 14 Tage ($\overline{x}$ + SD; K = Kontrollgruppe)

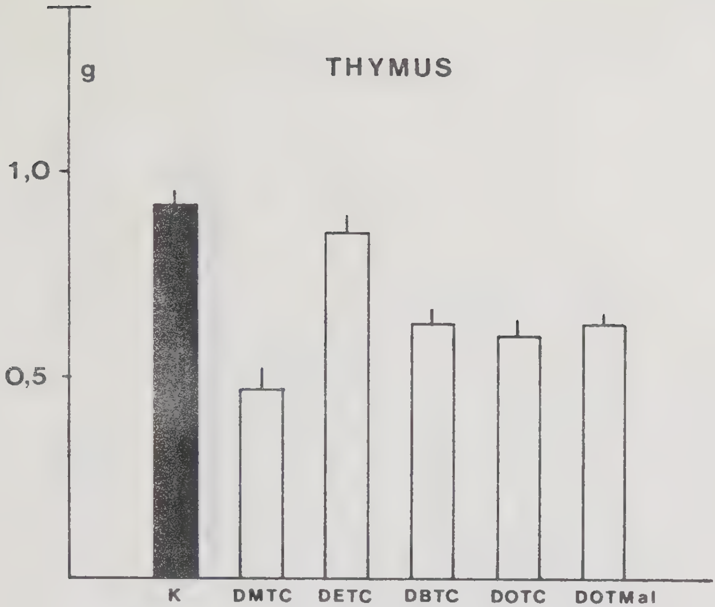


Abb. 8 II - 3

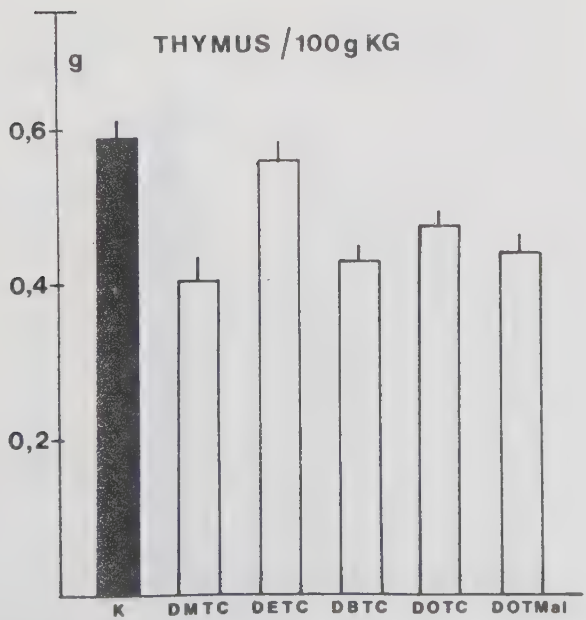


Abb. 8 II - 4

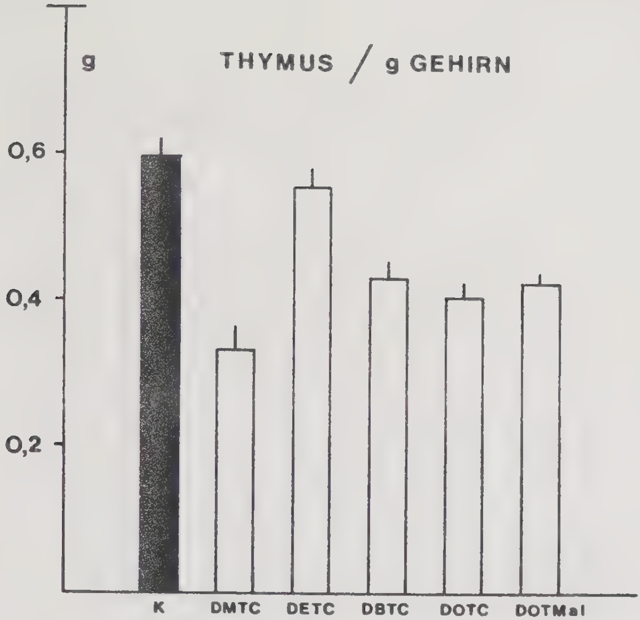


Abb. B II - 5

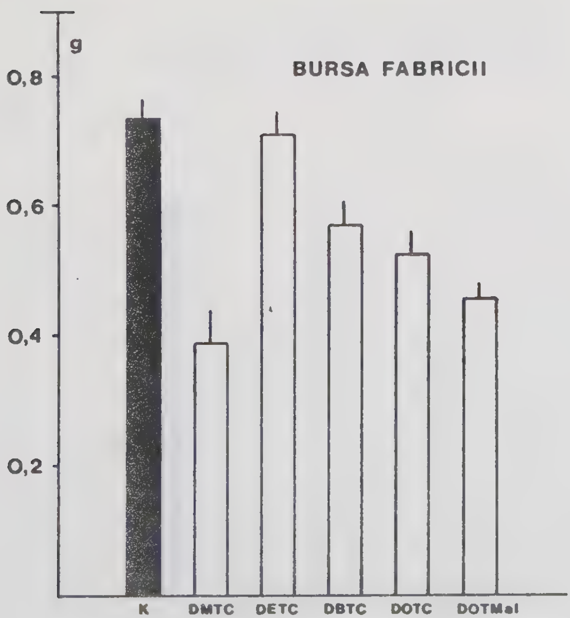


Abb. B II - 6

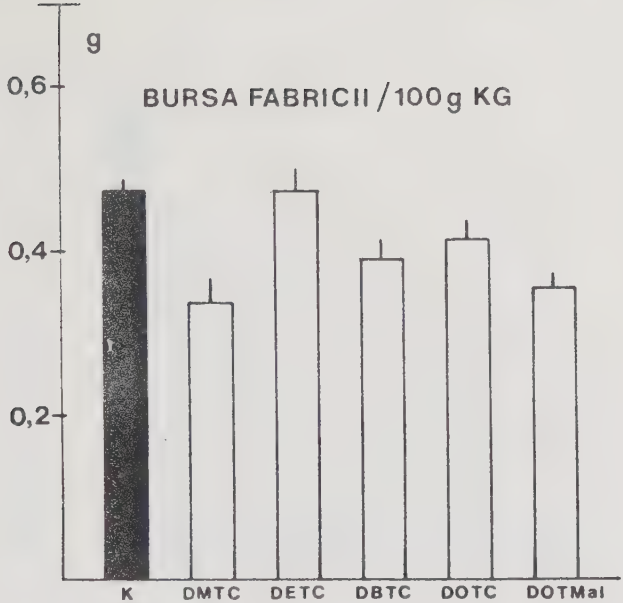


Abb. 8 II - 7

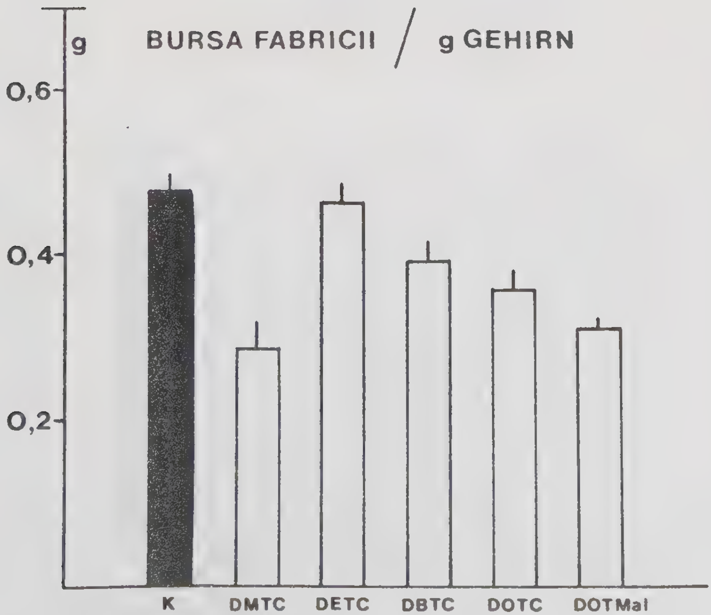


Abb. 8 II - 8

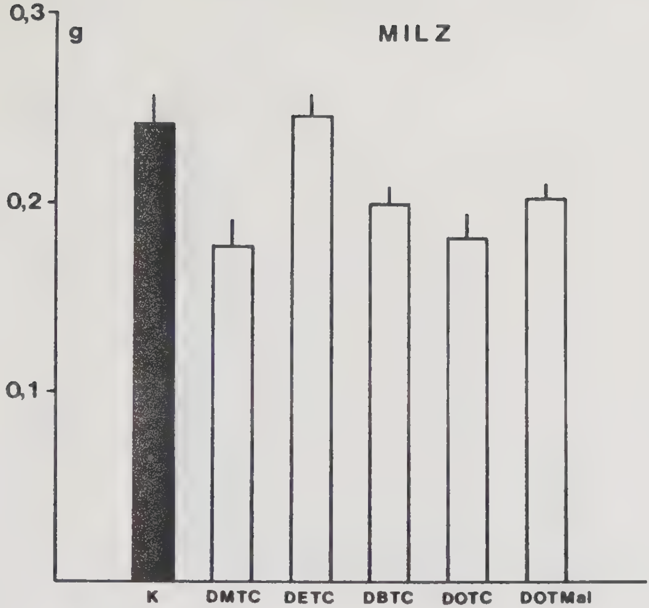


Abb. 8 II - 9

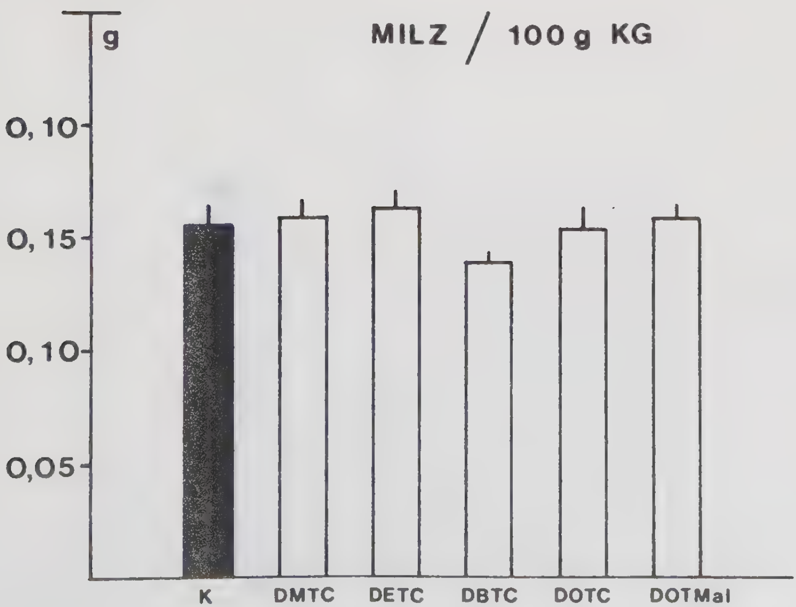


Abb. 8 II - 10

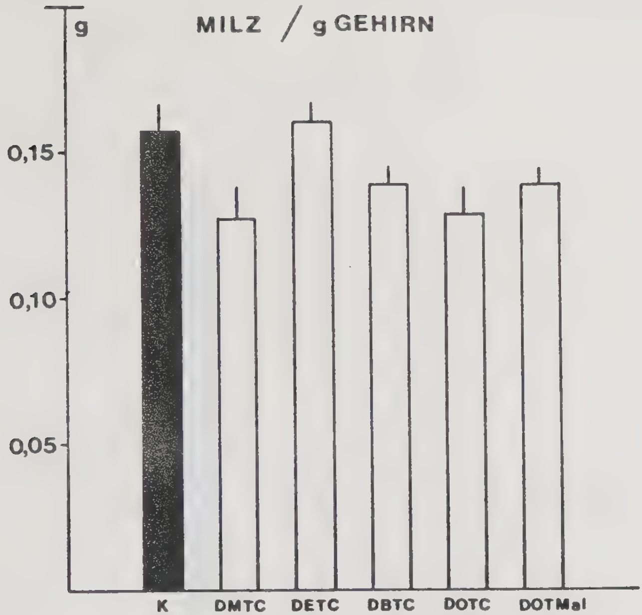


Abb. 8 II - 11

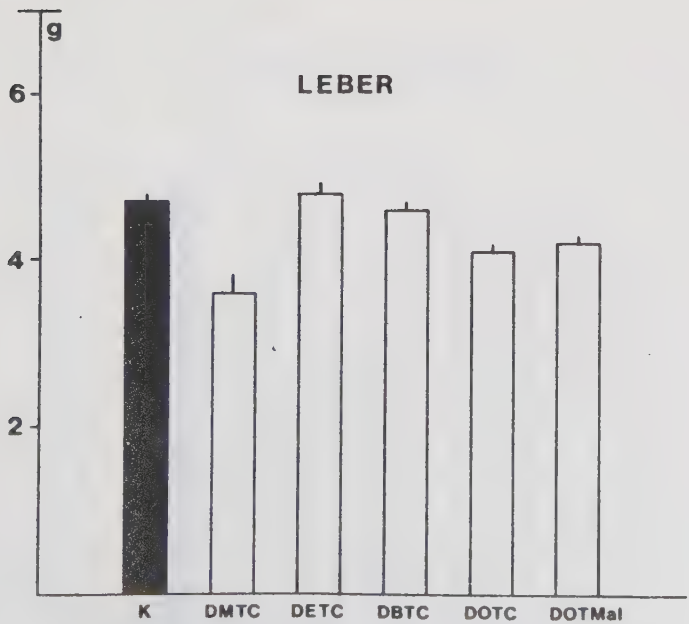


Abb. 8 II - 12

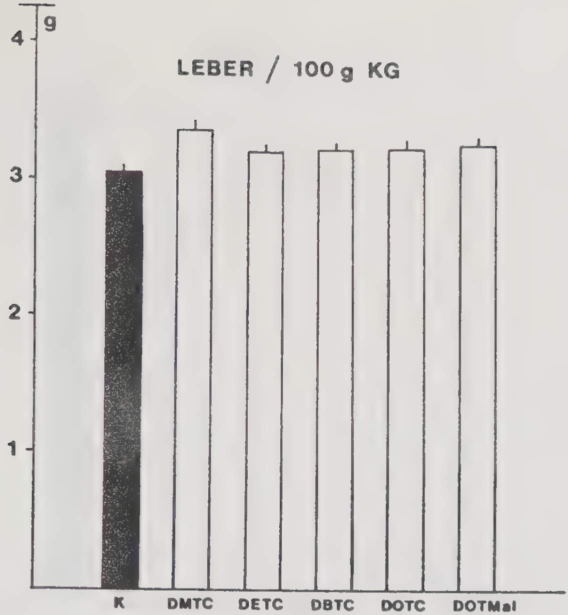


Abb. B II - 13

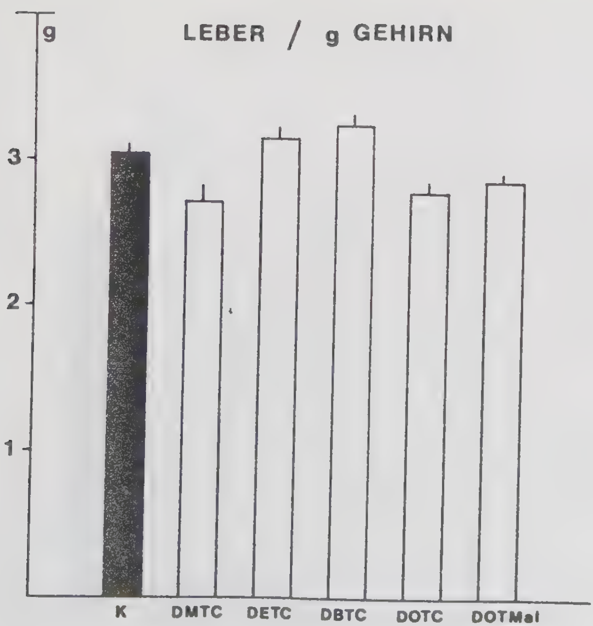


Abb. B II - 14

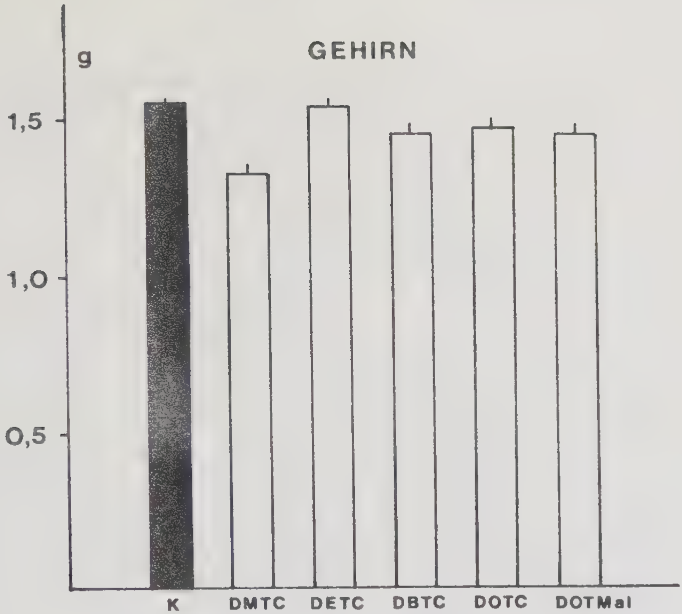


Abb. B II - 15

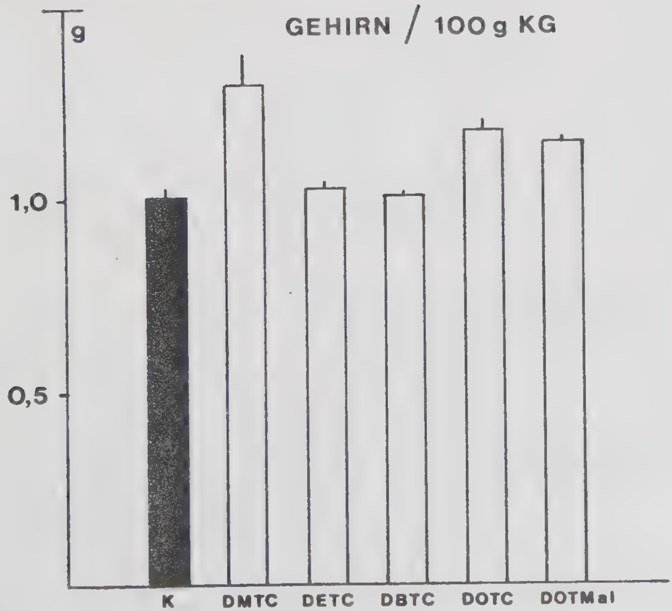


Abb. B II - 16

Schon nach dreimaliger Applikation wurde bei einigen Tieren in der mit DMTC behandelten Gruppe eine Lähmung der hinteren Extremitäten beobachtet, so daß die Küken nicht in der Lage waren, sich selbst zu ernähren. Diesen Tieren wurde daher, um eine Beeinflussung der Ergebnisse allein durch "Austrocknung" oder "Hungereffekte" zu vermeiden, zweimal täglich per Sonde 2 ml Wasser verabreicht und jeweils ca. 4 g des Trockenfutters zugefüttert.
Trotz Weiterzufuhr von DMTC ging die Lähmung erstaunlicherweise zurück, so daß zwei der drei Tiere nach fünftägiger und das dritte Tier nach einwöchiger "Sonderbehandlung" (H_2O,Futter) sich wieder selbst ernähren konnten und sogar eine Gewichtszunahme festzustellen war. Mehrere andere Tiere derselben Gruppe erfuhren unabhängig von ihrem Allgemeinzustand und ihrem Gewicht eine ähnliche Lähmung der hinteren Extremitäten, die teilweise wieder zurückging, teils noch am Tötungstag bestand. Jedoch konnten diese Tiere sich selbst ernähren, so daß eine besondere Zusatzfütterung nicht notwendig war.
Auffallend war auch der große interindividuelle Empfindlichkeitsunterschied in der DMTC-Gruppe. Dieser äußerte sich vor allem in einer sehr unterschiedlichen Körpergewichtsentwicklung der einzelnen Tiere dieser Gruppe, während in den mit den anderen Dialkylzinn-Verbindungen behandelten Gruppen das Körpergewicht aller Tiere einer Gruppe ziemlich gleichmäßig beeinflußt wurde. Ausdrücklich ist festzustellen, daß kein Zusammenhang mit dem Fütterungsverfahren besteht.

Die tabellarisch und graphisch dargestellten Ergebnisse des zweiwöchigen Fütterungsversuches können folgendermaßen zusammengefaßt werden:

- Eine Reduktion der Gewichtszunahme der Tiere konnte besonders unter DMTC, weniger unter den beiden Dioctylzinn-Verbindungen und in nur sehr geringem Maße unter DETC und DBTC festgestellt werden.

- Die Organgewichtsveränderungen lassen erkennen, daß das absolute Hirngewicht der Küken recht konstant bleibt, während das Körpergewicht und damit auch die hieraus berechneten Relationen teils erheblich schwanken.
  Unter DMTC, DBTC, DOTC und DOTMal, nicht jedoch unter DETC zeigte sich eine Abnahme des auf das Körpergewicht oder Gehirngewicht bezogenen Thymusgewichtes. Ein ähnliches Verhalten konnte auch bei der Bestimmung des Gewichtes der Bursa Fabricii beobachtet werden. Bezogen auf das Körpergewicht der Tiere zeigte sich keine statistisch signifikante Veränderung des Milzgewichtes. Das Gewicht der Leber zeigt geringfügige Schwankungen sowohl nach oben wie nach unten, ohne daß jedoch eine einheitliche Linie erkennbar ist

- Die elektrophoretische Trennung der Serumproteine ergab keine signifikanten Unterschiede des Verteilungsmusters zwischen Versuchsgruppen und der Kontrollgruppe.

BIII: *Untersuchungen zum Einfluß der Prüfsubstanzen auf den Embryo - embryonale Entwicklung, Embryotoxizität (Embryoletalität, Teratogenität)*

1. *Der Hühner e m b r y o als Experimentalmodell*

1.1. *DIE VOR- UND NACHTEILE DES HÜHNEREMBRYOMODELLS*

Die zunehmende Anzahl von Chemikalien, aber auch Nahrungsmittelzusätzen, die jährlich neu auf den Markt kommen, macht die Entwicklung von Methoden insbesondere zur Bestimmung der Toxizität notwendig, die rasch durchführbar und sicher in der Aussage sind. "Suspected substances should not be permitted in foods for human comsumption until tests have shown them to be harmless for the most sensitive tissues. Such test could conventiently be made on the avian embryo." meint PLATT (376) und MCLAUGHLIN demonstriert die Korrelation zwischen der im H ü h n e r e m b r y o t e s t (HET, hen's egg test) festgestellten Toxizität verschiedener Substanzen und geltenden Grenzwerten maximal zulässiger Exposition. Der gleiche Autor betont, daß dieser Test "in addition can provide information on the teratogenic effects of chemicals as an additional factor to be considered in the determination of safe levels in their use" (319).

Versuche, bei denen unterschiedliche Substanzen ins Hühnerei injiziert wurden, gehören seit vielen Jahren, vor allem im Ausland, zu Experimentalmethoden toxikologischer und teratologischer Art. Meist sind die Berichte in der Literatur untereinander aber nur schwer vergleichbar, da sie sich durch viele Faktoren, wie Injektionstechnik, Injektionszeitpunkt, Injektionsvolumen etc. unterscheiden. Geprüft wurden hauptsächlich Nahrungsbestandteile, Hormone, Vitamine, Schwermetallverbindungen, Lösungsmittel, Chemotherapeutika, Farbstoffe und deren Wirkung auf Absterbe- und Mißbildungsrate, sowie die Entwicklung einzelner Organe des heranwachsenden Embryos.

Bei dieser Sachlage und im Hinblick auf die gestellte Frage,

ob der Hühnerembryo ein geeignets toxikologisches Modell darstellt, war es von Interesse, aus der Literatur eine Zusammenstellung vorzunehmen, in der eine chronologische Übersicht der einschlägigen Berichte enthalten ist; bei diesem Bemühen wurden 202 Untersuchungen gefunden und ausgewertet. - Ohne daß damit ein Anspruch auf Vollständigkeit besteht, ist mit dieser Sammlung sicher aber eine gute Übersicht erzielt, die Grundlage weiterer Bewertung sein kann.

Die Tabelle BIII - 1. stellt eine vergleichende Zusammenstellung von entsprechenden Experimental-Untersuchungen am Hühnerei dar, die in den letzten 60 Jahren veröffentlicht wurden. Hieraus ergibt sich nicht nur eine Vielfalt der angewendeten Versuchstechniken, sondern auch eine breite Anwendbarkeit dieses Testverfahrens.

BIII - 1. Vergleichende Zusammenstellung von 202 in der Literatur beschriebenen toxikologisch-teratologischen Versuchen am Modell des Hühnerembryo

ERSCHEINUNGSJAHR	AUTOREN (LITERATURANGABE)	UNTERSUCHTE SUBSTANZEN	MAXIMAL INJIZIERTES VOLUMEN (in ml)	ORT DER INJEKTION (Applikationstechnik)	LÖSUNGSMITTEL	UNTERSUCHUNGEN, ERGEBNISSE

Legende:

AM - Amnionhöhle
AL - Allantoishöhle
CAM - Chorionallantoismembran
D - Dotter
EW - Eiweiß
LK - Luftkammer

Ad - Aqua destillata
Al - Alkoholische Lösung
Cmc - 0,5 %ige Carboxymethylcelluloselösung
Ksl - Kochsalzlösung
Rl - Küken-Ringer-Lösung

1924	HANAN	(164)	a) Trypanblau b) Kaliumferrocyanid c) Glucose d) Insulin		LK		a) Farbverteilung b) Toxizität c) Hyperglycämie d) Hypoglycämie
1924	HANAN	(165)	a) Insulin b) Glucose	2	LK	Ad	a) Hypoglycämie b) Hyperglycämie
1927	HANAN	(166)	Trypanblau	2	LK,EW		Farbverteilung
1927	HANAN	(167)	Methylenblau	0,5	LK		Farbverteilung
1928	HANAN	(168)	a) Insulin b) Thyroxin		LK		a) Hypoglycämie b) Toxizität, erhöhte CO_2-Produktion
1928	HAMMETT, WALLACE	(163)	$Pb(NO_3)_2$	0,5	D	Ksl	Teratogenität
1928	HURD	(190)	Trypanblau	3	LK		Farbverteilung
1929	LANDAUER	(267)	Lithiumsalze, Magnesiumsalze, Ringerlösung	2	LK	Rl	Toxizität
1931	VLADIMIROV	(477)	a) Aqua destillata b) Adrenalin c) Insulin	2	LK		a) Hypoglycämie b) Hyperglycämie c) keine BZ-Veränderung
1934	BRENEMAN	(45)	Oestron		AL		Gonadenveränderungen
1934	KOZELKA, GALLANGER	(262)	a) Extrakt aus männlichem Harn, Theelin, Theelol b) Testes-Extrakt	0,1	EW	Al	a) Gonadenveränderungen b) keine Gonadenveränderungen
1935	WOLFF	(510)	Oestron		CAM		Gonadenveränderungen
1936	FRANKE, MOXON, POLEY, TULLY	(124)	a) Natriumselenit, Natriumselenat b) Natriumarsenit, Bleiacetat, Natriumfluorid		LK		a) Teratogenität b) Organmalpositionen
1937	DOMM, DENNIS	(99)	Hypophysen-Extrakt	0,3	EW,AL		Gonadenveränderungen
1937	GAARENSTROM	(133)	Oestron	0,1	EW	Öl	Gonadenveränderungen
1937	WILLIER GALLAGER KOCH	(495)	a) Extrakt aus männlichem Harn, Theelin, Theelol b) Testes-Extrakt	0,1	EW	Al	a) Gonadenveränderungen b) keine Gonadenveränderungen

1937	MORITA	(336)	Paraffin, Agar-Agar, Kolophonium		subgerminal		Teratogenität
1939	DOMM	(98)	Oestrogene	0,5			Gonadenveränderungen
1939	GAARENSTROM	(134)	Oestradiolbenzoat	0,1	EW	Öl	Gonadenveränderungen
1939	GAARENSTROM	(135)	a) Oestradiol b) Androsteron, Dihydroandrosteron	1	EW	Öl	a) Gonadenveränderungen b) Entwicklungsstörung der Müllerschen Gänge
1939	GRAY	(151)	a) Luft b) Platiumchlorid, Rhodiumchlorid c) Kupferchlorid, Bleichlorid	1-3 0,5 1,0	über Keim EW EW		a) Teratogenität b) keine Teratogenität c) Toxizität, Teratogenität
1940	van DORDT	(354)	Oestron, Dihydroandrosteron	0,1	EW	Öl	Gonadenveränderungen
1941	CATIZONE, GRAY	(73)	$PbCl_2$	0,05 0,5	Subgerminalhöhle EW	 Ksl	 Teratogenität (bes. ZNS)
1941	GRAY, SCULLY	(152)	$CoCl_2$	0,5	EW		Amnionschädigung
1941	GRAY, WORTHING	(153)	Tetanustoxin	0,05	Subgerminalhöhle	 Ksl	 ZNS-Schädigung
1941	VENZKE	(474)	"Gonadogen"	1	EW,AL,Embryo		Gonadenveränderung
1942	ANCEL, LALLEMAND	(13)	Sulfamide			Ad,Öl	Teratogenität
1945	ANCEL	(12)	a) Prontosil^{R}, Pulmorex^{R} b) Paraaminobenzensulfamid, Eserinsulfat, Albucid^{R}, Soluseptasin^{R} c) Soludagênan^{R}				a) Teratogenität b) Achondroplasie c) keine Achondroplasie
1945	LANDAUER	(270)	a) Insulin, Cystein, Cystin, Glutaminsäure, Thioglycolsäure, HCl b) Maleinsäure, Kochsalzlösung	0,05	D	Ksl	a) Teratogenität b) keine Schädigung
1946	GABRIEL	(136,137)	Colchizin		Embryo		Teratogenität
1946	GROSSOWICZ	(154)	a) Thioharnstoff b) Thyroxin	0,5	D		a) Toxizität, Störung des Schlupfvorganges b) antagonistische Wirkung zu a)
1946	LANDAUER, BLISS	(284)	Insulin	0,05	D	Ksl	Teratogenität

1946	LANDAUER, LANG	(284a)	a) Insulin, reaktiviertes Insulin b) inaktiviertes Insulin	0,05	D	Ksl	a) Teratogenität b) keine Schädigung
1947	LANDAUER	(271)	a) Epinephrin b) NNR-Extrakt c) Insulin	0,05	D	Ksl	a) Wachstumsverzögerung b) keine Schädigung c) Teratogenität wird durch zusätzliche Gabe von a) oder b) nicht verändert
1947	LANDAUER	(272)	Insulin	0,05	D	Ksl	Teratogenität
1947	MOSELEY	(338)	Insulin	0,05	D	Ksl	Teratogenität
1948	ACKERMANN, TAYLOR	(2)	a) 3-Acetylpyridin b) Nicotinamid, Nicotinsäure, Tryptophan		D	Ksl	a) Teratogenität, Wachstumshemmung b) neutralisieren die Wachstumshemmung durch a)
1948	BOOKER, STURKIE	(40)	Thyroxine, iodiertes Casein		EW		verkleinerte Schilddrüse
1948	HUNT, WOLKEN	(189)	Natrium-^{32}Phosphat	1,0	EW	Ad	Verteilung der Radioaktivität
1948	LANDAUER	(273)	a) Insulin b) Nicotinamid, alpha-Ketoglutarsäure	0,05	D	Ksl	a) Teratogenität b) setzen Teratogenität von a) herab
1948	MCCARTNEY, SHAFFNER	(314)	a) Thyroxin b) Thyreoprotein		LK	Ad	a) verkleinerte Schilddrüse b) keine Wirkung auf die Schilddrüse
1948	SMITH, GRAY	(429)	^{64}Kupfer-Chlorid	1,0		Ksl	Verteilung der Radioaktivität
1948	ZWILLING	(521)	Insulin, Cortin	0,05	D	Ksl	Teratogenität, Hypoglycämie
1949	ADAMS, BULL	(3)	Thioharnstoff, Thiouracil	0,5	D		Störung des Schlupfvorganges, Wachstumshemmung, Wirkung auf die Schilddrüse
1949	CRAVENS, SNELL	(82)	a) Desoxypyridoxin b) Pyridoxin, Pyridoxamin, Pyridoxal	0,5	EW	Ad	a) Toxizität b) antagonistische Wirkung zu a)
1949	KARNOFSKY, PATTERSON, RIDGWAY	(216)	a) 4-Aminofolsäuren b) andere Folsäuren	0,2	D	Ad	a) Wachstumshemmung b) keine Wachstumshemmung

1949	KARNOFSKY, STOCK, RIDGWAY, PATTERSON (219)	a) Desoxypyridoxin b) Methoxypyridoxin c) Pyridoxin, Pyridoxamin, Pyridoxal, Pyridoxalphosphat	0,2	D	Ksl	a) Toxizität, Vitamin B_6-Antagonist b) Toxizität, sehr starker Vitamin B_6-Antagonist c) schützen gegen b)
1949	SNEDECOR (436)	a) Testosteronpropionat b) Dihydroandrosteronbenzoat c) Stilbestrol, Dienoestrol d) PMS (pregnant mare serum gonadotropin)	0,1	EW	Öl, Al, Ksl, Ad	a) schwach androgene Wirkung b) stark androgene Wirkung c) feminisierende Wirkung d) verstärkt Wirkung von c), interstitielle Testeshypertrophie
1949	WHEELER, HOFFMANN (492)	Kaliumjodid		EW	Ad	Thyroideahypertrophie, verlängerte Bebrütungsdauer
1949	ZWILLING (522)	a) Insulin b) Nicotinamid, alpha-Ketoglutarsäure	0,05	D	Ksl	a) Teratogenität, Hypoglycämie b) setzen Teratogenität durch a) herab
1950	DURAISWAIMI (104)	Insulin	0,15	D	Ad	Teratogenität
1950	KARNOFSKY, RIDGWAY, PATTERSON (220)	a) Thalliumsulfat b) Mangansulfat, Riboflavin, Biotin, Nicotinamid c) Thalliumnitrat d) Zinksulfat, Eisensulfat	0,8	D	Ad	a) Toxizität, Teratogenität, Wachstumshemmung b) schützen nicht vor a) c) Achondroplasie d) keine Schädigung
1950	RIDGWAY, PATTERSON, KARNOFSKY (392)	a) Thalliumsulfat b) Bleinitrat		D		a) Achondroplasie, kein Schlupf b) Hydrocephalus, kein Schlupf
1950	SNELL, CRAVENS (437)	a) Aminopterin b) H_2O c) Folsäure + Thymidin; Hypoxanthin-desoxyribosid + Thymidin; "Leuconostoc citrovorum-Faktor" + Thymidin + Folsäure d) Thymin, Hypoxanthin, DNA, Cobalamin	0,5	EW	Ad	a) dosisabhängig herabgesetzter Schlupf b) leicht herabgesetzter Schlupf c) schützen vor Wirkung von a) in dieser Kombination d) schützen nicht vor Wirkung von a)
1950	YOUNGER, WARD, SALK (516)	a) 8-Azaguanin b) Guanin	0,2	D	NaOH	a) Toxizität, Teratogenität, Wachstumshemmung b) antagonistische Wirkung zu a)

1950	ZWILLING DEBELL (525)	a) Sulfanilamid, Paraaminobenzoesäure b) Nicotinamid c) Pyridin-3-sulfonsäure, 3-Acetylpyridin	0,2	D		a) Teratogenität, Wachstumshemmung b) verändert Mißbildungsmuster von a) c) Wachstumshemmung, Skelettschädigung
1951	KARNOFSKY, RIDGWAY, PATTERSON (221)	Cortisonacetat	0,16	CAM, D	Al	Wachstumshemmung
1951	ZWILLING (523,524)	Insulin	0,05	D	Ksl	Teratogenität, Hypoglycämie, Hemmung der Glycolyse in den Dottersackmembranen
1952	ADAMS, BUSS (4)	Thioharnstoff, Propylthiouracil, 6-Methyluracil	0,5	D	Ad	Thyroideahypertrophie und -hyperplasie
1952	BEYER (34)	Thyroxin	0,25		Ad	erhöhtes Schlupfgewicht, verkürzte Bebrütungszeit, erhöhter O_2- Verbrauch
1952	KARNOFSKY, RIDGWAY (217)	verschiedene Bleisalze	0,2	D CAM	Ad	Toxizität, ZNS-Schädigung
1952	LANDAUER (275)	Borsäure	0,05	D	Ksl	Toxizität, Teratogenität
1952	LANDAUER (276)	a) Insulin, Borsäure, Pilocarpin b) Nicotinamid	0,05	D	Ksl	a) Teratogenität, Pigmentierungsstörungen b) setzt Störungen durch a) herab
1952	LANDAUER (277)	a) Borsäure b) Nicotinamid c) Natriumpyruvat d) Insulin e) Riboflavin	0,05	D	Ksl	a) Teratogenität, Riboflavindefizit in der Leber b) verändert Mißbildungsmuster von a) c) setzt Teratogenität von a) herab d) Teratogenität e) erhöht Teratogenität von d)
1952	RIDGWAY, KARNOFSKY (391)	a) 53 chemische Elemente b) Thallium, Chrom c) Blei, Cobalt d) Bor e) Arsen f) Rhodium g) Barium, Selen	0,4	D, CAM	Ad	a) Toxizität b) Achondroplasie c) ZNS-Schädigung d) Ödem, Federschäden, "Blässe" e) abdominelles Ödem, Teratogenität, Wachstumshemmung f) wie e), Federschäden g) Teratogenität, Wachstumshemmung

1952	VIDAL (571)	Thioharnstoff	0,5	D	Ksl	Toxizität, Teratogenität
1953	GORDON, ROEDER (147)	Adenosin		LK	Ad	Beeinflussung der Adenosindesaminase-entwicklung
1953	LANDAUER (278)	Insulin, Pilocarpin	0,1	D		Teratogenität, herabgesetztes Gewicht
1953	LANDAUER (279)	a) Borsäure b) D-Ribose, Pyridoxin, D-Sorbitolhydrat	0,05	D	Ksl, Al	a) Teratogenität b) setzen Teratogenität von a) herab
1953	LANDAUER (280)	a) Insulin b) 11 Zwischenprodukte der Glykolyse und des Citratzyklus, 4 Aminosäuren, Nicotinamid		D		a) Teratogenität b) beeinflussen Teratogenität von a) teilweise, teils Eigentoxizität und -teratogenität
1954	FREERICKS (131)	a) Farbstoffe b) Kochsalzlösungen	0,5	LK	Öl, Ad	a) Vitalfärbbarkeit, Reduktionsorte b) "Saugwirkung des Eiweißes"
1954	KARNOFSKY, ROSS, LEAVITT (222)	a) 36 verschiedene Ammoniumverbindungen, bes.: Methylnicotiniumbromid, Trimethylvinylammoniumchlorid b) Phyostigmin, Prostigmin		D		a) Toxizität, teils Teratogenität b) Teratogenität, Skelettschädigung
1954	NABER, CRAVENS, BAUMANN, BIRD (339)	a) Neopyrithiamin, Oxythiamin b) Thiamin, Cocarboxylase	0,1	EW	Ad	a) Toxizität b) verhindern toxische Wirkung von a)
1955	DAGG, KARNOFSKY, STOCK, RODDY (93)	a) 5 Thriazene b) Nicotinamid		D	Cmc	a) Teratogenität, Wachstumshemmung, Ödem, Federschäden, Milzschädigung b) schützt vor Teratogenität, nicht aber vor Toxizität von a)
1955	DAGG, KARNOFSKY (89)	a) Azaserin b) Nicotinamid, Ascorbinsäure, Pyridoxin, Riboflavin, Biotin		D	Ksl, Cmc	a) Teratogenität, Ödem, Federschäden b) schützen nicht vor a)
1955	DURAISWAMI (530)	Insulin, Soluseptasin, Thalliumnitrat, Benzylalkohol, Bleinitrat, 3-Acetylpyridin, Cortonacetat	0,05	D		Toxizität, Teratogenität
1955	FELDMANN, WADDINGTON (115)	a) DL-Methionin-^{35}S b) Ethionin c) Methionin d) Glycerin	0,1 0.35 0,5 0,5	EW	Ksl	a) Inkorporation in den Keim b) Teratogenität, gehemmte Methioninaufnahme in das Gewebe c) setzt Wirkung von b) herab d) schützt nicht vor b)

1955	KARNOFSKY, DAGG, LACON (211)	a) Ethionin b) Methionin c) Methioninsulfoximin		D		a) Wachstumshemmung, Ödem, Federschäden Schädigung der Leber und Muskulatur b) schützt vor Wirkung von a) c) Teratogenität, Wachstumshemmung Federschäden
1955	KARNOFSKY (209)	a) Amethopterin, 8-Azaguanin, Azaserin, 1,4-Dimethansulfonyloxybutan, DL-Ethionin, Hydrocortison, Netropsin b) Benzimidazol, Desoxypyridoxin, 6-Mercaptopurin, Urethan c) 2,4-Diamino-5-(4'chlorophenyl)-6-äthyl-pyridin, 2,6-Diaminopurin, Diäthylstil-bestrol, Nitrogenmustard d) 8-Azaxanthin, Cloramphenicol, 1,5-Diaminobiuret, 2,4-Diamino-5-(3',4'-dichlorophenyl)-6-äthylpyrimidin, D-Glucosamin, Methylcarbamat, N-Methyl-formamid, N-Methylacetamid, 8-Methoxytoluquinon, Kaliumarsenit	0,2	D	Ksl, Cmc	a) Teratogenität, Wachstumshemmung b) Wachstumshemmung c) Teratogenität d) keine Teratogenität oder Wachstums-hemmung
1955	KINGSBURY, EMERY, ADAMS (242)	Thioharnstoff	0,5	D	Ad	Wachstumshemmung, Thyroideahyper-trophie und -hyperplasie, NNM-Hyper-trophie, NNR-Atrophie mit Cholesterinverarmung
1956	DAGG, KARNOFSKY (90)	a) Azaserin b) Glutamin, Guanin, Histidin, Phenyl-alanin, Harnsäure, Serin, Xanthin c) 6-Diazo-5-oxo-1-norleucin d) Adenosin-3-phosphat, Guanylsäure, Natriumguanylat, Inosinsäure e) Adenin, Adenosin, 4-Amino-5-imidazol-carbamid, Hypoxanthin, Inosin		D		a) Teratogenität, Wachstumshemmung b) schützen vor a) c) hohe Teratogenität d) schützen vor c) d) schützen vor a und c)
1956	DAGG, KARNOFSKY, LACON, RODDY (92)	a) 6-Diazo-5-oxo-L-norleucin (DON) b) o-Diazoacetyl-L-serin (Azaserin) c) Adenin, Hypoxanthin		D		a) hohe Toxizität, Teratogenität b) Toxizität, Teratogenität c) schützen vor Teratogenität von a,b)

1956	LANDAUER	(281)	a) Pilocarpin, Isopilocarpin, Pilocarpidin, Isopilocarpidin b) Riboflavin, D-Sorbitolhydrat	0,05	D	Ksl	a) Teratogenität b) senken Teratogenität durch a)
1956	MELLANBY	(321)	Metioninsulfoximin	0,05	D	Ksl	Toxizität, Wachstumshemmung, Feder- und Skelettschädigung, Störung der sexuellen Reifung
1956	PETERS, VONDERAHE, POWERS	(366)	Phenylentetrazol	0,05	Embryo	Ksl	Bewegungsinduktion ab dem 8. Bebrütungstag
1956	ROMANOFF, LAUFER	(399)	Thioharnstoff	0,5	EW	Rl	Wachstumshemmung, Ödem, Vergrößerung der Thyroidea, Testes und Nebennieren, Verkleinerung der Leber und Ovarien
1956	van THIENHOFEN	(466)	a) Diäthylstilbestrol b) Testosteronpropionat	Immersion		Öl, Al	a) Gonadenveränderungen b) keine Gonadenveränderungen
1957	LANDAUER	(282)	a) 6-Aminonicotinamid b) 3-Acetylpyridin c) Nicotinamid, L-Tryptophan, 3-Hydroxyanthranilsäure d) 5-Methyl-DL-Tryptophan	0,05	D	Ksl	a) Teratogenität, Wachstumshemmung, verkleinerte Milz, vergrößerte Gallenblase b) Teratogenität, Muskelschädigung c) senkt Toxizität und Teratogenität von a) und b) d) Teratogenität
1957	MELLEN	(322)	a) Methyltestosteron b) Diäthylstilbestrol	Immersion			a) keine Gonadenveränderungen b) keine Gonadenveränderungen, hohe postpartale Mortalität
1957	ROEDER	(396)	Arginin	1	LK	Ad	erhöhte embryonale Argininaseaktivität
1957	ROSENBERG	(558)	Beta-Aminopropionitril	0,05	D	Ad	Toxizität, Teratogenität
1958	ADAMS	(5)	Thyroxin	0,5	D		Wachstumsförderung bei kleiner Dosis, Wachstumshemmung bei hoher Dosis, Schilddrüsenwirkung
1958	BEAUDOIN, WILSON	(27)	Trypanblau	0,1	D	Ksl	Toxizität, Teratogenität

1958	BLATTNER, WILLIAMSON, SIMONSEN (36)	a) Azaserin b) L-Serin	0,05	Embryo	Ksl	a) Teratogenität, Wachstumshemmung, b) keine Schädigung
1958	DAGG, KARNOFSKY (91)	a) 6-Aminonicotinamid b) Nicotinamid, DPN, Nicotinsäure		D		a) Teratogenität, Wachstumshemmung, ZNS-Schädigung b) schützen vor Wirkung von a)
1958	ELRICK, KONIGSBERG, ARAI (532)	Glucagon	0,2	CAM	Pannett-Compton's solution	kein Effekt beobachtet
1958	KARNOFSKY, MURPHY, LACON (215)	5-Fluoropyrimidine		D		Toxizität, Teratogenität, Wachstumshemmung und Entwicklungsstörung
1958	PINCUS, HOPKINS (374)	16 Steroide	Immersion		Al	Toxizität, feminisierende oder maskulinisierende Wirkung
1958	TISNA-AMIDJAJA (467)	a) Acetylcholin, Histamin, p-Aminobenzoesäure b) Alloxan c) Carbutamid (Nadisan[R]) d) Sulfisomidin (Aristamid[R]) e) Nicotinsäureamid	0,5	LK	Ad	a) Gewichtszunahme b) Gewichtszunahme, BZ-Anstieg c) Teratogenität, BZ-Abfall, Federschäden d) Teratogenität, Ödem, Gewichtsabnahme e) senkt Teratogenität von d), Gewichtserhöhung
1959	BEVELANDER, NAKAHARA, ROLLE (33)	Tetracycline		D		Schädigung der Osteogenese, Chordogenese, Hämatopoese
1959	FRANCISCIS, LANDAUER (126)	a) Insulin b) Cortison		D		a) Teratogenität b) steigert Toxizität und wachstumshemmende Wirkung, aber nicht Teratogenität von a)
1959	MEYER, RAO, ASPINALL (327)	19-Nortestosteron	0,1		Öl	Entwicklungsstörung des rectalen Komplexes, der Bursa fabricii, des Thymus und der Milz
1959	MOSCONA, KARNOFSKY (337)	Cortisonacetat	0,1	CAM	Al	Toxizität, Teratogenität, Wachstumshemmung, Federschäden

1959	ROGLER, PARKER, ANDREWS, CARRICK (557)	Thiouracil, Thyroxin	0,5	EW, LK, AL	Ksl	Toxizität
1959	SINHA, RINGER, COLEMAN, ZINDEL (426)	Thiouracil	0,5		Rl	Wachstumshemmung
1960	BEVELANDER NAKAHARA, ROLLE (526)	Tetrazycline	0,1	D	Ad	Störung der Mineralisation
1960	BLATTNER, WILLIAMSON, SIMONSEN (37)	Azaserin, 8-Azaguanin, Aminopterin, Hydrocortison, 6-Mercaptopurin, Nitrogenmustard, Triäthylenmelamin, Urethan	0,1	Embryo	Ksl	Teratogenität
1960	KARNOFSKY (210)	Aminopterin, 6-Diazo-5-oxo-L-norleucin, 5-Fluorodesoxyuridin, 5-Jododesoxyuridin, 6-Mercaptopurin		D		Toxizität, Teratogenität
1960	KONDO (261)	Oestradiolbenzoal	0,05	D	Öl	Feminisierung
1960	RUCH (407)	Oestrogen				Feminisierung
1960	VACCA (472)	a) Calziumpantothenat b) Thyroxin	0,1	D	Ksl	a) Gewichtserhöhung b) Gewichtserniedrigung, aber besonders starke Gewichtserhöhung, wenn zusammen mit a)
1961	BEAUDOIN (26)	Farbstoffe	0,1	Subgerminalhöhle, D	Ksl	Teratogenität in Abhängigkeit von Injektionstechnik
1961	GLICK, SALDER (143)	a) Diäthylstilbestrol b) Testosteronpropionat	Immersion			a) Reduktion des Bursa Fabricii-gewichtes b) Reduktion des Bursa Fabricii- und Milzgewichtes, herabgesetzte Antikörperbildung auf polyvalentes Antigen
1961	GOERTTLER, HARTMANN (535)	Beta-Aminopropionitril	0,1	D	Ad	Toxizität (Mesenchymschäden, cystische Nierenschädigung)

1961	KARNOFSKY, LACON (212)	a) Purinbasen, Ribonucleoside b) Desoxyribonucleoside	0,2	D	Cmc	a) Toxizität b) Toxizität, Teratogenität, Ödem, Wachstumshemmung
1961	KEMPER (224, 225,226,541)	a) Thalidomid b) 4-Desoxypyridoxol c) Pyridoxol	0,1	D	D	a) Teratogenität, Anämie b) Wirkung als Antivitamin B_6 c) schützt nicht vor a)
1961	PIERRO (371)	a) Actinomycin b) Calziumpantothenat, Cytidin, Thymidin c) DNA, Desoxyguanosin, Guanosin d) DL-Methionin, Natriumpyruvat	0,05	D		a) Teratogenität b) senken Teratogenität durch a) c) schützen vor a) d) schützen nicht vor a)
1961	PIET, MARAUD, STOLL (552)	Thyroxin, Oestradiol				Anomalien des Müllerschen Ganges
1961	PIET, STOLL MARAUD (553)	a) Testosteronpropionat b) Thyroxin			Öl	a) Agenesie des Müllerschen Ganges b) verstärkt Wirkung von a)
1961	RUMPLER, ZAHND (410)	1-Methyl-2-mercaptoimidazol		D	Ad	Störung der Osteogenese
1962	FRANCISCIS, BACCALATTE (125)	Bleiacetat	0,15	D		Toxizität, Teratogenität, Wachstumshemmung
1962	GERLINGER, RUCH, CLAVERT (534)	Cyclophosphamid	0,2	EW	Thyrode	Teratogenität
1962	JAYARAMAN, RAMASARMA (196)	a) Coenzym Q-C^{14} b) Mevalonsäure-C^{14}		AL	Al	a) Aufnahme durch den Embryo b) vom Embryo zur Coenzym Q-Synthese verwandt
1962	KARNOFSKY, LACON (213)	a) Desoxyguanosin b) Desoxycytidin, 5-Methyldesoxycytidin c) Purine und ihre Ribosylderivate, Pyrimidine und ihre Desoxyribosylderivate		D		a) Toxizität, Teratogenität, Ödem b) schützen vor a) c) schützen nicht vor a)
1962	PINCUS, ERICKSON (373)	Diäthylstilbestrol	Immersion		Al	Gonadenveränderungen
1962	MCLAUGHLIN, MUTCHLER (317)	$HgCl_2$, verschiedene Alkohole, 2-Äthylhexyldiphenylphosphat	0,1	D		Toxizität

1962	PAPERMASTER, FRIEDMAN, GOOD (358)	19-Nortestosteron	0,1		Öl	größere GvHR-Empfindlichkeit, "Runting"-Syndrom
1962	PLATT, STEWART GUPTA (376)	a) Methioninsulfoximin, beta-Aminopropionitrilfumarat b) Thalidomid		D		a) Toxizität, Skelettschädigung b) Wachstumshemmung
1962	POTOP, BIENER (379)	a) lipophiler Thymusextrakt b) hydrophiler Thymusextrakt			Öl Ad	a) Verminderung des relativen Lebergewichtes, Ossifikationsstörungen b) Verminderung des relativen Lebergewichtes, der Schilddrüsen-, Nebennieren- und Gonadenfunktion, des Schlupfgewichtes und der Schlupfrate
1962	WALKER, WALKER (481)	a) Creatinin, Arginin, Guanidinoacetat b) Ornithin, Glycin, gamma-Aminobutyrat	0,3		Ad	a) Repression der hepatischen Argininglycintransaminase ohne Beeinflussung der Guanidinoacetatmethyltransferase b) keine Wirkung wie b)
1963	BOYLEN, HORN, JOHNSON (43)	a) Thalidomid, Thalidomidmetabolite b) Glutamin	0,2	D	Cmc, Ksl	a) Teratogenität b) senkt Teratogenität von a)
1963	DEBOCK, PETERS (95)	Thalidomid	0,5	D	Cmc	Teratogenität
1963	GERLINGER, RUCH, CLAVERT (141)	Cyclophosphamid	0,2	EW	Thyrode	Toxizität, Teratogenität
1963	MARLIAC, MUTCHLER (311)	a) Malathion b) EPN c) Triorthocresylphosphat	0,1	D		a) Toxizität, Teratogenität b) Paralysen, zusammen mit a) wie a) c) zusammen mit a) : Toxizität, Teratogenität, Federschäden

1963	MCLAUGHLIN, MARLIAC, VERRET, MUTCHLER, FITZHUGH (318,549)	mehr als 100 Substanzen, davon sind hochtoxisch: a) Bleiacetat, Diaminodiphenylurethan, Dibutylzinndilaurat b) clorierte Polyphenyle c) Thioharnstoff d) Thioorthocresylphosphat e) $HgCl_2$, Natriumselenit f) Propylenglycol, Ad, Ksl, Öl, Dextrose (5 %)	0,1	D		a) Teratogenität b) Teratogenität, Wachstumshemmung, Ödem c) Wachstumsverzögerung d) Wachstumsverzögerung, Paralysen e) Toxizität f) keine Toxizität
1963	SALZGEBER, SALAON (559)	Thalidomid		CAM, Embryo	Dioxan + Ad, Dmc	Teratogenität
1963	SMITH, CHAPMAN (433)	Sr^{81} und Tetracycline	0,2	D	Ad	Einlagerung in das Skelett
1963	TCHERNOUKH, ALEXANDROV (462)	a) Penicillin b) Cycloserin, Chlortetracyclin, Oxytetracyclin, Streptomycin, Thiamid, Phthivazid	0,2	D	Ksl	a) Wachstumsförderung b) Wachstumshemmung
1963	VERRETT, MCLAUGHLIN (475)	Insulin, Thalidomid, Tetracycline	0,1	D	Al, Dioxan	Teratogenität, Toxizität
1963	WALKER (480)	a) Creatinhydrat, Guanidinacetat, Arginin, Citrullin b) Glycin c) Betain, 4-Aminobutyrat d) Ornithin			Ad	a) Repression der hepatischen Argininglycintransaminase b) verstärkt Wirkung von a) c) vermindert Wirkung von a) d) keine Wirkung wie a)
1963	WILLIAMSON, BLATTNER, LUTZ (496)	Thalidomid, Sand, Aluminium, Metalloxide, Glas		AM	Ksl, Allantoisflüssigkeit	Teratogenität
1963	YANG, YANG, LIANG (513)	Thalidomid		D		Teratogenität

1964	DRACHMAN	(100)	Botulinustoxin	0,1	i.v.	Rl	Skelettmuskelatrophie und -denervation, Wachstumshemmung, herabgesetztes Herz- und Lebergewicht
1964	KARNOFSKY, LACON	(214)	a) NNR-Corticosteroide b) Tallium c) Tetramethylammoniumbromid, Decamethoniumbromid, Physostigmin, Pilocarpin, Neostigmin, Fluorouracil, 5-Fluorodesoxyuridin, weitere halogenierte Pyrimidine d) Methoniumsulfoximin e) 6-Aminonicotinamid, 5-Fluornicotinamid, Pilocarpin, Insulin, Sulfanilamid, 3,3-Dimethyl-L-phenyltriazen f) Azaserin g) Desoxyguanosin	0,2	D, Cam	Ksl, Cmc	a) Teratogenität, Ossifikationsschäden b) Teratogenität c) Teratogenität (bes. Skelettschäden) d) Teratogenität, durch Nicotinamid nicht herabsetzbar e) Teratogenität, durch Nicotinamid herabsetzbar f) Teratogenität, durch Adenin herabsetzbar g) Teratogenität, durch Desoxycytidin herabsetzbar
1964	MCLAUGHLIN, MARLIAC, VERRETT, MUTCHLER, FITZHUGH	(319)	a) Methanol, Äthanol, i-Propanol, i-Amylalkohol b) Butanol c) Allylalkohol d) Äthylacetat, Benzen, Toluen, Styrenmonomer e) Butylacetat f) Tetrachlorkohlenstoff, Aceton, Dimethylformamid		D		a) Toxizität, mit MG ansteigend b) Toxizität, Teratogenität, Nieren- und Corneaschädigung c) hohe Toxizität, Corneatrübung d) Toxizität e) Toxizität, Nieren- und Corneaschäden f) niedrige Toxizität
1965	CONTI, MILIO	(528)	a) Deoxypyridoxin b) Pyridoxin	0,1	EW	Thyrode Ksl	Toxizität
1965	DRACHMAN	(101)	Turbocurarin	i.v.-Infusion			Lähmung erst vom 14. Bebrütungstag an
1965	HUGHES, LEE, FLOOD	(188)	Tetracycline	0,2	AL		Schädigung des Skelettsystemes

1965	NARBAITZ, TEITELMAN (551)	Oestradiolbenzoat		CAM		Gonadenveränderungen
1965	STOLL, FAUCOUNAU, MARAUD, COULAUD (564)	a) "acide tetraiodothyroacetique" b) L-Thyroxin c) D-Thyroxin d) DL-Thyroxin e) Glucose		CAM	NaOH, Ad	a-d) Teratogenität e) schützt vor a)
1965	THOMPSON, HOWELL, PITT, HOUGTON (568)	a) Vitamin A - Säure b) Retinol			Öl	Toxizität
1966	EIDUSON (107)	L-5-Hydroxytryptophan	0,25	AM	Ksl	Veränderung des cerebralen 5-Hydroxytryptamingehaltes
1966	GRABOWSKI (148)	$CaCl_2$, Calziumpantothenat	0,04	D,AL	Ad	Teratogenität, herabgesetzter Plasma-Calzium-Spiegel
1966	KURY, CRAIG (543)	a) 5-Fluoro-2'-deoxyuridin b) 5-Fluoro-uracil, 5-Fluoro-orotsäure c) Thymidin		D		a+b) Teratogenität, Toxizität c) verstärkt Toxizität, nicht aber Teratogenität von a)
1966	PIERRO, SPIGGLE (372)	Desoxyguanosin	0,2	D	Ad	Teratogenität, Wachstumshemmung, Ödem, Federschäden
1966	STOCUM (563)	Thioharnstoff, Cortisonacetat	0,2	CAM	Ksl	duodenale Hypoplasie
1967	GUESS, HABERMAN, ROWAN, BOWER, AUTIAN (157)	Buthyloctylphthalat, Butyldecylphthalat	0,1	AL	Rl	Teratogenität, postpartal neurologische Veränderungen
1967	KAPLAN, GRABOWSKI (206)	Trypanblau	0,02	D	Ksl	Teratogenität, kaudale Hämatome
1967	MARAUD, STOLL COULAUD (544)	a) Cyproteron b) Cyproteronacetat				Toxizität, kein Einfluß auf Regression des Müllerschen Ganges
1967	STOLL, MARAUD FAUCOUNAU, COULAUD (565)	a) Thyroxin b) Aminosäuren	0,05 -0,25	CAM	NaOH, Ad	a) Teratogenität b) schützen vor Wirkung von a)

1967	WALKER	(483)	verschiedene polare und apolare Lösungsmittel	0,1	D		Verteilung, schädigendes Verhalten
1968	BIGELOW, SPARBER	(35)	Mescalin	0,02		Ksl	Toxizität, Beeinflussung des postpartalen Verhaltens
1968	HABERMAN, GUESS, ROWAN, BOWMAN, BOWER	(161)	a) Dimethylphthalat, Diäthylphthalat, Dibutylphthalat, Butylbenzylphthalat b) Dioctylphthalat, Butyloctylphthalat c) Octylisodecylphthalat	0,1	AL, CAM	Hl	a) Toxizität b) Toxizität, neurologische Schäden, postpartale Mortalität c) wie b), Teratogenität
1968	JOHNSON	(539)	Thioharnstoff	0,1	CAM	Ksl	Federwuchs, Pigmentierung
1968	KAPLAN, JOHNSON	(207)	Trypanblau	0,002	D	Ksl	Teratogenität, erhöhter O_2-Verbrauch
1968	SPARBER, SHIDEMAN	(442)	Reserpin	0,01	D	Ksl	Toxizität, herabgesetzter Hirnkatecholamingehalt, Lernstörungen
1969	MARAUD, COULAUD, STOLL	(545)	Oestradiolbenzoat				Regression des Müllerschen Ganges
1969	ROGER, UPSHALL, CASIDA	(556)	a) Organophosphate b) Nicotinsäure, Nicotinamid, Nicotinamidpräkursoren und -analoga NAD, NADP	0,1	D	Ksl	a) Teratogenität b) vermindern z.T. Teratogenität von a)
1969	SPARBER, SHIDEMAN	(440)	Reserpin	0,01	D	Ksl	postpartale Lernstörungen bei unveränderter lokomotorischer Aktivität
1969	SPARBER, SHIDEMAN	(441)	Reserpin	0,01	D	Ksl	herabgesetzter Hirnkatecholamingehalt
1969	VERRETT, MUTCHLER, SCOTT, REYNALDO, MCLAUGHLIN		Captan, Folpet, Difolatan, Captanepoxid, Tetrahydrophthalimid, Phthalimid, Difolatanepoxid, Phthalamid, Phthalsäure, Tetrahydrophthalsäure	0,1	D, LK	DMSO, Äthanol	Teratogenität
1970	BALABAN, HILL	(19)	a) Thyroxin b) Thioharnstoff		Embryo	Ad	a) vorzeitiger Schlupf b) kein Schlupf

1970	BOWER, HABERMAN, MINTON (42)	verschiedene Phthalsäureester	0,1	D	ungelöst	ZNS-Schädigung, teils Teratogenität, teils Blindheit
1970	DAUTLICK, STRITTMATTER (529)	a) Hydrocortison b) Sucrose	0,05 0,2	LK	Ksl	a) Aktivitätszunahme intestinaler Disaccaridasen, nicht aber b)
1970	JONES (540)	Parathyroidea-Extrakt	0,1	CAM		Toxizität, Ossifikationsstörungen
1970	KAPLAN, JOHNSON (208)	Trypanblau	0,001	i.v.	Ksl, Serum	Toxizität, Teratogenität, Hämatome
1970	KOBAYASHI, EIDUSON (257)	a) L-Dopa b) JB-516 (Catron) + L-Dopa	0,25	AM	Ksl	a) kein Effekt auf Hirnkatecholamine b) kurzzeitige Erhöhung der Hirnkatecholamine
1971	MARAUD, STOLL VERGNAUD (547)	a) Oestradiolbenzoat b) TSH, FSH c) ACTH, GH, LH, Prolactin				a) Regression des Müllerschen Ganges b) Verminderung des Effektes von a) c) keine Beeinflussung des Effektes von a)
1972	CAPLAN (527)	a) 3-Acetylpyridin, 6-Aminonicotinamid b) Nicotinamid, Nicotinsäure	0,05 -0,1	D	Thyrode	a) Teratogenität b) vermindern Teratogenität von a)
1972	HALL (536)	Beta-Aminopropionitril	0,5	CAM	Ksl	Osteogenesestörung
1972	HOFFMAN, RAMM (179)	Trypanblau	0,1	D	Ksl	Toxizität, Hämorrhagien
1972	MARAUD, STOLL, VERGNAUD (546)	a) Oestradiolbenzoat b) Oestronbenzoat c) Oestradiolacetat d) Oestriol, Diäthylstilbestrol			Öl	a) Regression des Müllerschen Ganges b) kein Effekt wie a) c) geringere Wirkung als a) d) stärkere Wirkung als a)
1972	MARCH, COATES, GOUTHIE (308)	a) Vitamin A (Alkohol) b) Vitamin A (Palmitat)	0,1	EW	Öl	a) Toxizität, Teratogenität, verzögerter Schlupf, Hämorrhagien b) verzögerter Schlupf
1972	ROSENTHAL, SPARBER (402)	Methylquecksilberdicyandiamid	0,03	D	Ksl	Toxizität, postpartal Lernstörungen

1972	SEEGMILLER, OVERMAN, RUNNER (560)	6-Aminonicotinamid	0,05	CAM	Ad	Teratogenität
1972	STOLL, FAUCOUNAU, MARAUD (566)	a) Androstenolon, Androstandion, Dihydrotestosteron, Testosteronpropionat, Methyltestosteron, Androstandiol b) Androstendion		CAM	Öl	a) Agenesie des Müllerschen Ganges b) keine Wirkung wie a)
1972	STRITTMATTER (567)	Hydrocortison	0,05	LK	Ksl	Veränderung der hepatischen und duodenalen Phosphataseaktivität
1974	LYDIARD, SPARBER (299)	Reserpin	0,004	D		erhöhte Thyrosinhydroxylaseaktivität
1974	PREDA, POPA, SENDREA, GALEA (554)	8-Hydroxyquinolein, Saprosan, Cifoform, Thioharnstoff, Diphenylthioharnstoff, Phenylthioharnstoff, 2-Thioacyl, 6-Methyl-2-Thioharnstoff, 6-Propylthioharnstoff, Dimethylnitrosamin, Napoton, Nitrazepam, Chlorpromazin, Majeptil, Hydroxyzin, Meprobamat	0,1 - 0,2	AM, D	Ksl, Ethylenglycol, Propylenglycol, Öl	Toxizität
1975	HOFFMAN (180)	Trypanblau	0,1	D	Ksl	Toxizität, die durch Hypoxie erhöht wird
1975	LYDIARD, FOSSOM, SPARBER (300)	Reserpin, DL-alpha-Methyl-para-thyrosin	0,01	D	Ksl	Beeinflussung des cerebralen Katecholaminspiegels und der Thyrosinhydroxylaseaktivität
1975	PROCTOR, MOSCIONI, CASIDA (555)	Organophosphate, Methylcarbamate	0,03	D	Methoxytriglycol	Herabsetzung des NAD-Spiegels, Teratogenität
1976	HUGHES, ROSENTHAL, SPARBER (187)	Methylquecksilberdicyandiamid	0,03	D	Ksl	Toxizität, Verhaltensstörungen postpartal

1976	MARHAN, JELINEK, RYCHTER, REZABEK (537,538,548)	Mesylphenacyrazin, Phenylpiperazin, Meprobamat, Prothiaden, Imipramin, Amitriptylin, Octoclothepin, Oxy-prothepin, Perphenazin, Cytembena, Butocin, Trimethazon, Phenylbutazon, Trimepranol, Cromipranol, Dithiaden	0,003 -0,1	unter Embryo	Äthanol, DMSO, Cmc	Toxizität, Teratogenität
1976	ZAPP (517)	gesättigte Rhodanide	0,1	EW	EW	Toxizität, Teratogenität
1977	KING (542)	a) Kupfersulphat b) Oestradiol	0,1		Ad	a) Teratogenität, Toxizität, Verminderung des Hämoglobins b) Herabsetzung der Toxizität, nicht aber der Teratogenität von a)
1977	MOSCIONI, ENGEL, CASIDA (550)	Organophosphate, Methylcarbamate	0,04	D	Methoyxtriglycol	Teratogenität
1977	SEEGMILLER (561)	6-Aminonicotinamid	0,05	CAM	Ksl	Teratogenität
1977	VAINIO, MEMMINKI, ELOVAARA (569)	a) Styren b) Styrenoxid	0,05	LK	Öl, Äthanol	Toxizität, Teratogenität
1978	SEIFERT, CASIDA (562)	Organophosphate, Methylcarbamate	0,01	D	Methoxytriglycol	Teratogenität, Hemmung der Knyureninformidase
1979	ELOVAARA, MEMMINKI, VAINIO (531)	Methylenchlorid, Trichloräthan, Trichlorethylen, Toluen, Tetrachloroethylen	0,025	LK	Öl	Toxizität, Teratogenität
1980	ETO, SEIFERT, ENGEL, CASIDA (533)	Organophosphate, Methylcarbamate	0,01	D	Methoxytriglycol	Teratogenität

1976	MARHAN, JELINEK, RYCHTER, REZABEK (537,538,548)	Mesylphenacyrazin, Phenylpiperazin, Meprobamat, Prothiaden, Imipramin, Amitriptylin, Octoclothepin, Oxyprothepin, Perphenazin, Cytembena, Butocin, Trimethazon, Phenylbutazon, Trimepranol, Cromipranol, Dithiaden	0,003 -0,1	unter Embryo	Äthanol, DMSO, Cmc	Toxizität, Teratogenität
1976	ZAPP (517)	gesättigte Rhodanide	0,1	EW	EW	Toxizität, Teratogenität
1977	KING (542)	a) Kupfersulphat b) Oestradiol	0,1		Ad	a) Teratogenität, Toxizität, Verminderung des Hämoglobins b) Herabsetzung der Toxizität, nicht aber der Teratogenität von a)
1977	MOSCIONI, ENGEL, CASIDA (550)	Organophosphate, Methylcarbamate	0,04	D	Methoyxtriglycol	Teratogenität
1977	SEEGMILLER (561)	6-Aminonicotinamid	0,05	CAM	Ksl	Teratogenität
1977	VAINIO, MEMMINKI, ELOVAARA (569)	a) Styren b) Styrenoxid	0,05	LK	Öl, Äthanol	Toxizität, Teratogenität
1978	SEIFERT, CASIDA (562)	Organophosphate, Methylcarbamate	0,01	D	Methoxytriglycol	Teratogenität, Hemmung der Knyureninformidase
1979	ELOVAARA, MEMMINKI, VAINIO (531)	Methylenchlorid, Trichloräthan, Trichlorethylen, Toluen, Tetrachloroethylen	0,025	LK	Öl	Toxizität, Teratogenität
1980	ETO, SEIFERT, ENGEL, CASIDA (533)	Organophosphate, Methylcarbamate	0,01	D	Methoxytriglycol	Teratogenität

BIII - 2. <u>TABELLE ZUR ENTWICKLUNG DES HOHNEREMBRYO</u>

(in Anlehnung an die Tafeln von HAMBURGER und HAMILTON) (162)

Tag	anatomischer Entwicklungsstand	endocriner Entwicklungsstand	Funktionen/Beginn
1	Keimscheibe		
2	Neuralrohr, Gehirn, Neurohypophyse, Herz, Kreislauf, Leber, Pro- und Mesonephros, Wolffsche Gänge		Hämoglobinbildung kranielle Flexur
3	Magenkomplex, Pankreas, Lunge Federanlage, Extremitätenknospen	Glucagon	
4	NNR, NNM, Metanephros, Gonadenanlage	Insulin, Oestrogene	Erythropoese
5	<u>Milz, Thymus, Bursa Fabricii</u>	Corticosteroide	
6	Nebenschilddrüsen		
7	sexuelle Differenzierung	Testosteron	hepatische Gluconeogenese
8	Knochenmineralisierung, Müllersche Gänge	Parathormon, ACTH, Monojodothyrosin	
9		Dijodothyrosin	Hämatopoese im Knochenmark
10		Thyroxin, TSH	
11		NNM-Katecholamine	
12	Verlust der Müllerschen Gänge (♂)		Schalen-Ca^{++}- und Eiweißabsorption verstärkt, Beinbeugung
13		neurohypophysale Hormone	beschleunigte Dotterlipoid-Mobilisierung
14	exocrines Pancreas	Östriol	
15		Wachstumshormone	spontane elektrische Hirnaktivität (366)
17			koordinierte stereotype Bewegungen
18		Calcitonin	Schnabel unter re Flügel, Antwort auf Lichtreize, <u>IgM-Synthese in Bursa Fabr.</u> (465)
19			Beginn der Dottersackeinziehung
20			Atmung, Kreislaufumstellung,
21			Schlupf, homoiotherme Regulation, Beginn der Immunabwehr

Daß phasenspezifische Wirkungen gut zu beurteilen sind, zeigte sich am eindrucksvollsten bei den von KARNOFSKY u.a. (175) durchgeführten Versuchen mit vor Bebrütungsbeginn injiziertem Cortisonazetat, welches die Entwicklung in den ersten Tagen der Bebrütung nicht beeinflußt und erst am 8. - 10. Bebrütungstag seine Wirkung entfaltet und zu einer starken Wachstumshemmung führt.
Nach DEBOCK (95) ist der Hühnerembryo ein besonders sensitiver Indikator für teratogene Effekte, da es zu keiner Exkretion der Substanzen kommen kann und so leicht eine konstante Konzentrationshöhe der Prüfsubstanz in der Umgebung des Embryos gehalten wird.

Die Schwierigkeiten teratologischer Untersuchungen an Säugerembryonen liegen vornehmlich darin, die direkten Wirkungen des pränatalen Kontaktes mit der Substanz von den indirekten, durch das Muttertier vermittelten zu trennen, wie sie neben metabolischen Faktoren in hormonellen Einflüssen oder Ernährungsstörungen oder das Muttertier krank machenden und so indirekt auch den Keim schädigenden Effekten des zu untersuchenden Stoffes bestehen können (187).

So ist beispielsweise bei der Prüfung der Wirkung von Antibiotika auf den Embryo die indirekte Wirkung durch die Veränderung der maternen intestinalen Flora und die daraus resultierende mögliche Änderung der Resorption allgemein und insbesondere von Vitaminen nicht kalkulierbar (462).

Von derartigen Einflüssen aus der Muttertier-Frucht-Beziehung ist der getrennt vom Muttertier aufwachsende Hühnerembryo frei und es stellt sich auch nicht die Frage, in wieweit das Muttertier und die Plazentaschranke den applizierten Wirkstoff metabolisiert und verändert, giftet oder entgiftet, oder möglicherweise vom Embryo überhaupt fernhält (517).
Derartige Kenntnisse sind zwar sehr wichtig, sollten jedoch in anderen Abschnitten pharmatoxikologischer Prüfung gewonnen werden.

Einen ebenfalls zu beachtenden Vorteil des HET stellt seine Ökonomie dar. Eine große, statistisch signifikante Anzahl von Eiern, die allzeit verfügbar sind, kann in recht kurzer Zeit unter kontrollierten, standardisierbaren Bedingungen

überprüft werden (163,209,317,319,376,517).

Als nachteilig anzusehen ist der erhebliche phylogenetische Abstand der Spezies Huhn vom Menschen. Doch zeigte sich nach v. KREYBIG (264,265) und nach JELINEK und MARHAN (537,538,548) anhand vieler Parallelversuche und -beobachtungen an anderen Spezies, daß die Übertragung der Modellversuche aufgrund entwicklungsphysiologischer Analogien von einer Spezies auf die andere möglich ist.

Die Bedeutung teratologischer Forschungsarbeit und einer vergleichenden Betrachtung der am Hühnerembryo gefundenen Mißbildungen mit Fällen der menschlichen Pathologie (43, 95,226,475,496,513) zeigte sich im Rahmen der Thalidomid Ereignisse. 1962 forderte GOERTTLER (146) die Überprüfung einer größeren Anzahl von Wirkstoffen auf teratogene Nebenwirkungen und meinte zur Übertragbarkeit der Ergebnisse auf den Menschen: "Teratologische Experimente und Vergleichsfälle der menschlichen Pathologie haben ergeben, daß hier eine große Übereinstimmung bei allen Wirbeltierspezies besteht. Ist die getestete Substanz beim Hühnchenkeim in der Größenordnung von wenigen Gamma wirksam, muß sie auch für den Menschen als gefährlich gelten."

Im vorliegenden Falle bietet sich der Hühnerembroy als Versuchstier weiterhin an, da nur bei Vögeln die Bursa Fabricii als zweites anatomisch darstellbares lymphatisches Organ mit immunologischer Kompetenz neben dem Thymus existiert.

Eine Schwierigkeit aller teratologischen Untersuchungen liegt in der Bewertung von Befunden im Verhältnis zur Dosis. Der Bezug auf das Körpergewicht des Keimes ist offensichtlich unsinnig - am 2. Bebrütungstag wiegt der Keim noch nicht einmal 10 mg - und die Umrechnung auf das Gesamtgewicht des Eies ist ebenfalls problematisch (146), jedoch als Hilfsgröße brauchbar.

Aufgrund der genannten Vorteile des Hühnerkeimes als embryonales Versuchsmodell wurden Versuchstechniken entwickelt, die nicht nur die Wirkung injizierter Fremdsubstanzen prüften, sondern auch die Wirkung verschiedener physikalischer Faktoren auf die Embryogenese (336). Hingewiesen werden muß auch auf die Arbeiten von KLEIN, GRAU und anderen (102,150,243,244, 245,482), die eine Technik der Dottersackperfusion entwickelten, und auf DRACHMANN und COMCOMBRE (102), die eine intravenöse Infusion am Hühnerembryo benutzten. Andere Versuchstechniken (332) erlauben die kurzzeitige Beobachtung der avianen Embryonalentwicklung in vitro (346,355,357,405,443, 444).
Die Absorption von radioaktiv markiertem Natriumjodid aus verschiedenen Salbengrundlagen und dessen Anreicherung in der Thyroidea des Hühnerembryos wurde ebenso geprüft (409) wie der Einfluß verschiedener Gasdrücke, Sauerstoffpartialdrücke und CO_2-Konzentrationen auf den sich entwickelnden Embryo (51,52,54,55,138,140,406,413,521,523). ROBSAAMEN gibt eine Übersicht über die bis 1952 mit verschiedenen Gasen und O_2-Konzentrationen an Hühnerembryonen gemachten Versuche (406). Auch im Rahmen strahlenbiologischer Untersuchungen fand der Hühnerembryo Verwendung (264,265,458). Die Berichte über den Einfluß des Lichtes auf die Entwicklung des Embryos widersprechen einander (425,458). HYMAN untersuchte den Einfluß elektrischen Stromes und magnetischer Felder auf die Entwicklung des Hühnerembryos (192). Der Einfluß von Virusembryopathien auf den Embryo läßt sich demonstrieren (497) und die gefundenen Wirkmuster lassen, wenn sie mit pharmakologisch-toxikologischen Ergebnissen verglichen werden, an einen Substratentzug als auslösende Ursache der Embryopathie denken (37,264,265). Versuche am Hühnerembryo können, neben dem Einsatz als "Screening"-System bei der Suche nach wachstumshemmenden Substanzen, wie besonders von KARNOFSKY (209,210,213,214,215) beschrieben, auch als mögliche Methode zur Überprüfung der Empfindlichkeit verschiedener Geschwulste gegen Cytostatika und der durch diese bewirkten Wachstumshemmung und beeinträchtigten Malignität, in Betracht gezogen werden (37,93).

Tumor-Explantate können zum Beispiel auf die Chorionallantois gepflanzt (93,218), oder auch als Zellsuspensionen in den Dotter appliziert werden (218,461); dieses Verfahren hat den Vorteil, daß derartige Implantate in das Dotterinnere hineinwachsend die Entwicklung des Embryos nicht mechanisch stören und große Tumoren (bis 3,5 g) gezüchtet werden können.

1.2. FAKTOREN, DIE DIE HÜHNEREMBRYOGENESE BEEINFLUSSEN

Eine große Anzahl von Faktoren, deren Kenntnis und Optimierung Voraussetzung der Arbeit mit Hühnereiern ist, beeinflußt die Lebensfähigkeit und Schlupfrate der Tiere sowie die Ausprägung möglicher Mißbildungen. So konnte LANDAUER (266) nach-

weisen, daß sowohl die Gegebenheiten vor Bebrütungsbeginn, wie sie in der Konstitution der Eier (Genetik der Elterntiere) gegeben sind, als auch die Umstände der Bebrütung die Ergebnisse der Inkubation stark beeinflussen können. Weiterhin wichtig sind Technik und Zeitpunkt der Applikation der zu untersuchenden Substanzen sowie deren Dosis und das verwendete Lösungsmittel.

1.2.1. BEDINGUNGEN VOR BEBRÜTUNGSBEGINN

Schon genetische Faktoren, das heißt die Wahl des Stammes, dessen Eier bebrütet werden, kann sich sehr auf die erhaltenen Ergebnisse auswirken (76,276,277,338), denn die Embryonen verschiedener Stämme entwickeln sich nicht nur verschieden schnell (162), sondern zeigen auch eine verschieden hohe Mißbildungsneigung (283) und Resistenz gegen bestimmte Noxen (272).

Genetische Letalfaktoren spielen nur eine kleine Rolle, doch ist bekannt, daß starke Inzucht innerhalb eines Stammes die Schlupfrate senkt, die Kreuzung verschiedener Stämme diese hingegen anhebt (266). Auch das Alter der Legehennen und die Legeleistung des Zuchtstammes spielen eine Rolle (76), denn nur die im ersten Legejahr der Hennen gelegten Eier zeigen eine höchste Schlupfrate bei niedrigster Mißbildungsrate (266). Die Schlupfrate von frühmorgens gelegten Eiern soll gegenüber den in der zweiten Tageshälfte gelegten Eiern erhöht sein (266). Einzelheiten der Zusammensetzung der Eier sind natürlich abhängig von der Futterzusammensetzung der Legehennen (81,266,391,438,447). Aus der Literatur ist bekannt, daß eine Änderung des Vitamingehaltes (z.B. Riboflavin (110,290,315,398) oder Biotin (81)), des Gehaltes an Spurenelementen (z.B. Mangan (70) oder Selen (268)) und Hormonzusätze (z.B. Thyroxin, Thiouracil, Thyreoprotein (314)) im Futter der Legehennen sich auf die Lebensfähigkeit und Mißbildungsrate der Embryonen auswirkt.

Der Aufbau der Schale, die als Ca^{++}-Depot für den sich entwickelnden Embryo eine bedeutende Rolle spielt, sowie als Medium, durch das der Gasaustausch mit der Umgebungsluft stattfindet, hängt sowohl von genetischen, als auch von Ernährungsfaktoren der Legehenne ab. Sehr poröse, dünnwandige Eier bewirken einen übermäßigen Wasserverlust und so ein frühzeitiges Absterben des Keimes (266). Daneben gibt es geschlechtsgebundene genetische Faktoren, die bei einigen Stämmen bei einem der Geschlechter zu einer erhöhten Letalität oder Mißbildungsrate führen. Im allgemeinen spielen diese jedoch keine große Rolle (266).

Ein wichtiger Faktor ist die Größe und das Gewicht der bebrüteten Eier (145,162,391), die nicht nur die notwendige Bebrütungsdauer (266) und das Gewicht des geschlüpften Kükens (286), sondern auch die Schlupfrate beeinflussen. Beste Schlupfergebnisse sollen bei Eiern zwischen 50 und 60 g erhalten werden (266).

Da es schon vor dem Ablegen, im Körper der Legehennen, zu verschieden langer Inkubation der Eier kommt, stellen selbst frisch gelegte Eier keine völlig "gleichalte Population" dar. Von Interesse ist, daß die Schlupffähigkeit der Embryonen mit der Länge dieser Vorbebrütung ansteigen soll (162,266).

Die Lagerungsbedingungen bis zum Bebrütungsbeginn beeinflussen ebenfalls die Schlupfrate. Während der atmosphärische Druck im Rahmen normaler Schwankungen und O_2- und Co_2- Konzentrationen der Umgebungsluft vor Bebrütung die Lebensfähigkeit der Embryone nicht beeinflussen (266), kann mechanisches Schütteln der Eier, zum Beispiel auf dem Transport, besonders, wenn sofort im Anschluß die Bebrütung begonnen wird, zu einer Erhöhung der Absterbe- und Mißbildungsrate führen (256,283).

Am meisten wirkt sich die Dauer der Lagerung (162,283) und die Lagerungstemperatur (76) auf die Bebrütungsergebnisse aus. Die beste Lagerungstemperatur soll zwischen 8 und 12° C liegen. Notwendig ist sicher eine Lagerungstemperatur unter dem "physiologischen Nullpunkt", der zwischen 20 und 21° C liegt, d.h. dem Temperaturbereich, in dem im Ei kein weiteres Wachstum erfolgt. Während der Lagerung auftretende Temperaturen unter 0° C oder über 38° C führen zu einer starken Reduktion der Schlupfrate (266,335). Ab -6 bis -7° C stirbt der Keim sofort (335). Mit zunehmender Lagerungsdauer kommt es zu einer Erhöhung der Mortalität, besonders in den frühen Bebrütungsstadien und zu einer Verlängerung der erforderlichen Bebrütungszeit. Auch nimmt der Prozentsatz der Eier, deren Entwicklung nicht in Gang kommt und die dann (fälschlich) als unbefruchtet klassifiziert werden, zu. Unter günstigen Lagerungsbedingungen kommt es während der ersten Woche der Lagerung jedoch zu keiner bedeutenden Senkung der Schlupfrate (266).

1.2.2. BEDINGUNGEN WÄHREND DER BEBRÜTUNG

Während der Bebrütung ist die Bebrütungstemperatur einer der bedeutendsten, den Embryo beeinflussenden Faktoren (162,286, 289,298,356).

Die optimale Bebrütungstemperatur im Inkubator liegt 1 - 1,5° C unter der unter natürlichen Brutbedingungen (Henne) erreichten Temperatur, da in der Brutmaschine eine einförmige Wärmeverteilung erreicht wird und kein Temperatur-Gradient, wie unter natürlichen Bedingungen besteht.

Als optimalgelten 37,8° C und leichte Schwankungen sollen helfen, die Schlupfrate weiter zu erhöhen (130,266). Gegen kurzzeitige Abkühlung in der ersten Bebrütungswoche sind Hühnerembryone ziemlich resistent, obwohl durch sie die Schlupfzeit hinausgezögert und möglicherweise die spontane Mißbildungsrate leicht erhöht werden kann. Andererseits reagieren die Embryonen sehr empfindlich auf einen leichten Anstieg der Temperatur über das Optimum, durch den es zwar zu einem schnellen Wachstum und frühzeitigen Schlupf, aber auch zu einer stark erhöhten Mißbildungsrate kommen kann (64,266).

Die Entwicklung homoiothermer Regulationsmechanismen beim Hühnerembryo wurde von WEKSTEIN und ZOLMAN untersucht (491).

Bebrütungstemperatur und notwendige Luftfeuchtigkeit hängen eng zusammen. Bei einer Temperatur von 37,8° C soll die optimale Luftfeuchtigkeit bei ca. 60 % liegen (130,266,286). Sehr wichtig, besonders zwischen dem 4. und 7. Bebrütungstag, ist das regelmäßige Wenden der Eier, damit es nicht zu einer Adhäsion extraembryonaler Membranen aneinander und auf diese Weise zu einer Störung der embryonalen Entwicklung kommt (130,194,286).

Unter normalen Brutbedingungen bewegen Hühner ihre Eier fast ca. 100 mal am Tag; dies wird mit mechanischem Wenden im Inkubator simuliert wo wenigstens viermal täglich, besser häufiger, gewendet werden sollte. Weiterhin sollte das Wenden der Eier während der Bebrütung nicht immer nur in gleicher Richtung erfolgen, da dies zu einer Erhöhung der Mortalität führt (266). Zu häufiges Wenden soll das Auftreten von Maldispositionen, das heißt, das Einnehmen atypischer Positionen des Embryos im Ei vor dem Schlupf, begünstigen, Durch diese kommt es dann häufig zu einem Absterben der Foeten vor dem Schlupf. Mehr als 50 % der nach dem 18. Tag abgestorbenen Embryonen sollen eine atypische Lage aufweisen (266). Einige Maldispositionen können experimentell durch "falsche Lagerung" der Eier während der Bebrütung erzeugt werden. Normalerweise werden die Eier horizontal oder mit dem stumpfen Eipol nach oben im Inkubator gelagert (130).

Beachtenswert ist, daß, wenn die Eier nahe zusammenliegen, der Schlupf der Küken fast gleichzeitig erfolgt, was auf eine gegenseitige Beeinflussung zurückgeführt wird, während wenn sie einige Zentimeter Abstand haben, sich der Schlupf über einen größeren Zeitraum erstreckt (130).

Vibration und häufige Bewegung der Eier während der frühen Bebrütungsphase können einen reduzierten Schlupf und eine erhöhte Mißbildungsrate bewirken (266).

Während der ersten zwei Bebrütungstage ist der Sauerstoffbedarf der Embryonen gering (266); in späteren Brutstadien kann schon kurzzeitiger Sauerstoffmangel schwere Mißbildungen bewirken (28,54,55,57,286,340,406). Wichtig ist also eine korrekte Belüftung des Inkubators.

Beste Schlupfergebnisse werden bei 21 % Sauerstoff erhalten (130,266). Eine erhöhte CO_2-Konzentration verursacht eine Verlangsamung des Wachstums, Mißbildungen und eine Senkung der Schlupfrate. Andererseits sollen kleine Mengen CO_2 (ca. 0,4 %) während der frühen Entwicklung notwendig sein (266).

Auch saisonale Faktoren beeinflussen die Fertilität der Eier sowie die Vitalität und möglicherweise sogar die Mißbildungsrate der Embryonen (162,269,276,277,283). Im Zusammenhang hiermit sollen auch die teils widersprechenden Befunde über Einflüsse von Licht und Dunkelheit auf die Embryoentwicklung erwähnt werden (286,424,458,130).
Die Schlupfrate von Eiern infizierter Hennen - meist Salmonellen - ist erniedrigt, häufig sind auch die Eier dieser Hennen infiziert (266).
Als "normale" Schlupfraten gelten in der Literatur (266) zwischen 55 und 70 %. Die Schlupfrate unter "optimalen Bedingungen" soll zwischen 70 und 85 % liegen (266). Über ähnliche Schlupfraten von großen Zahlen unbehandelter Eier über längere Zeiträume wird berichtet (42,188,273,310). FREERICKS (131) gibt an, daß normalerweise ein Drittel der Eier unbefruchtet oder in den ersten Bebrütungsstunden abgestorben ist.

Nach LANDAUER (266) beträgt der Anteil infertiler Eier ca. 5 - 15 %. Hierbei muß jedoch beachtet werden, daß ein beträchtlicher Teil der als unfruchtbar erscheinenden Eier aus befruchteten Eiern besteht, deren Keim in den ersten Stunden abgestorben ist (205). MCLAUGHLIN u.a. fanden, daß ca. 9 % der Eier als "defekt" vor Bebrütungsbeginn festgestellt und entfernt werden können (wegen Anbruch, Schalenfehlern, Bluteinschlüssen, Fehlern der Luftkammern

usw.). Nach der Elimination solcher Eier sollen Schlupfraten von 95 % erreichbar sein.

Die Größenordnung der spontanen Mißbildungsrate ist abhängig auch vom Stamm der Legehennen (43,269,276).

Auch bereits entwickelte Organe können durch Fremdsubstanzeinwirkung im Ei beeinträchtigt werden wie in Untersuchungen von SNEDECOR (436) und RIDGEWAY und KARNOFSKY (391) gezeigt wurde.
Auch postnatale, zentralnervöse Störungen durch praenatal applizierte Substanzen wurden am Hühnerküken beschrieben. So führen ins Dotter applizierte Phthalsäureester zu neuromuskulären Schädigungen, die sich in Tremor, Steh- und Laufbeeinträchtigung der Küken äußern (42).

Besonders bei Anwendung der Dottertechnik, d.h. Injektion der Prüfsubstanz in den Dottersack, sind Gewichtsretardierung, Tod während der ersten Lebenswoche und Nervenschädigungen bis zu sechs Wochen nach Schlupf offenbar möglich (317,319).

1.2.3. <u>VARIABLE BEDINGUNGEN DES EXPERIMENTES</u>:

Nicht nur die Beschaffenheit der Prüfsubstanz und ihre Dosierung spielen im HET eine Rolle, die Mortalität der Embryonen steigt auch mit der Anzahl der Injektionen pro Ei, dem Volumen der einzelnen Injektion und ist abhängig vom bereits erreichten Alter der Embryonen (Brutstadium) (99,338,391).

Normalerweise kann die applizierte Dosis um so größer sein, je älter der Embryo ist (76).

Es wird für die Gabe von Bleinitrat in den Dotter beschrieben, daß am 10. Tag der Bebrütung eine 1.000-fache Dosis gleich toxisch wirkt wie eine einfache Dosis am 2. Bebrütungstag (217). Aber auch "altersunabhängige" Ausnahmen wie zum Beispiel Zinntetrachlorid wurden beschrieben (51,52).

Aus teratologischen Untersuchungen ist bekannt, daß jeder Bruttag entsprechend den sich ständig ändernden Wachstums- bzw. Determinationszonen ein spezielles Mißbildungsmuster hat (217,272,283,340). Das bedeutet, daß an verschiedenen Bruttagen appliziert, die gleiche Substanz unterschiedliche Störungen hervorrufen kann.

Auch die Wahl des Lösungsmittels (391) spielt eine entscheidende Rolle, während eine Änderung des pH-Wertes im sich nicht ausschlaggebend auf die Mißbildungsrate auswirken soll (37).

Obwohl Literaturberichte vorliegen, aus denen zu entnehmen ist, daß bei einer Injektion von Prüfsubstanzen in den Eidotter Wasser, Propylenglykol, Öl, physiologische Kochsalzlösung und Dextroselösung als Lösungsmittel keine toxischen Eigenwirkungen besitzen (317,319) haben Erfahrungen des eigenen Arbeitskreises gezeigt, daß von Injektionen, gleich mit welchem Lösungsmittel, in den Eidotter abzuraten ist; dies wird auch von anderer Seite bestätigt (42,76).
Bei der Injektion ins Eiweiß kommen Alkohole wegen ihrer eiweißfällenden Wirkung als Lösungsmittel nicht in Betracht. Ölige Lösungsmittel können die Schalen und Schalenhäute verfetten, den Gasaustausch unterbrechen und so den Embryo ersticken lassen (131). Bei den eigenen Untersuchungen erwies sich physiologische Kochsalzlösung und Eiweiß aus Eiern desselben Stammes als unschädlich.

Das vor der Bebrütung ins Eiweiß injizierte Volumen sollte 0,1 ml nicht überschreiten (225). CRAVENS und SNELL (82) berichteten, daß die Injektion von 0,2 ml vor Bebrütungsbeginn schon eine starke Senkung der Schlupfrate bewirkt, während 0,1 ml sich als harmlos erwies.

Neben den genannten peristatischen Faktoren, deren Bedeutung bei der Entstehung von Mißbildungen und deren Einfluß auf die Vitalität des Keimes auch BÜCHNER (51,52,54,55) hervorhebt, spielt im HET die angewendete Injektionstechnik eine besondere Rolle.

1.3. APPLIKATIONSTECHNIKEN VON PRÜFSUBSTANZEN IN DAS HÜHNEREI

Zur Einbringung der Testsubstanz ins Hühnerei bieten sich verschiedene Möglichkeiten an (Vgl. Abb. BIII - 1.3.)
Neben der Injektion in die einzelnen Kompartimente des Hühnereies: Amnionhöhle, Allantoishöhle, Dottersack, Luftkammer, Eiweiß, kommt auch das Aufbringen von Lösungen auf die Chorionallantoismembran in Betracht. Weiterhin bietet sich die Immersion des gesamten Eies in eine Lösung des zu untersuchenden Stoffes an. Jede der Techniken hat gewisse Vor- und Nachteile. Das Bohren eines Loches in die Eischale allein, führt zu keiner Erhöhung der Absterbequote und Mißbildungsrate (277).

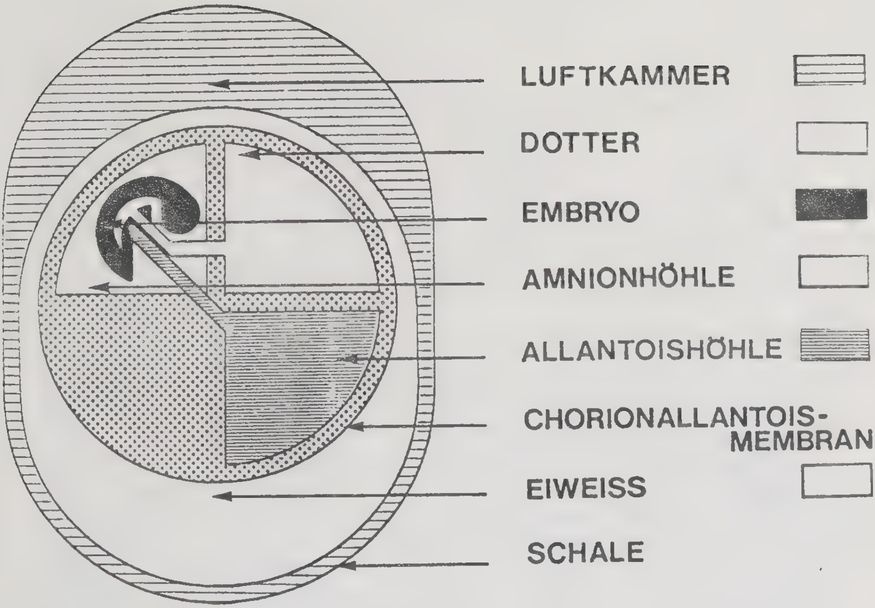


Abb. BIII - 1: Applikationsmöglichkeiten von Prüfsubstanzen im Hühnerembryomodell

Die Technik der Injektion in die Amnion- oder Allantoishöhle ist schwierig und störanfällig. WILLIAMSON (496) prüfte die Wirkung von in die Amnionhöhle eingebrachten festen Substanzen und fand bei allen eine erhöhte Mißbildungsrate. Das gefundene Ergebnis wurde auf einen Fremdkörpereffekt zurückgeführt, da es unwahrscheinlich erschien, daß alle getesteten Substanzen teratogene Wirkungen besitzen.

Die Möglichkeit der Injektion in die Allantoishöhle besteht nur bei älteren Küken (131) und kann frühestens am sechsten Tag der Bebrütung erfolgen. Ein weiterer Nachteil dieser Applikationsform ist, daß nur sehr kleine Volumina eingebracht werden können und daß zur exakten Injektion ein größeres Stück der Schale entfernt werden muß, um unter Sicht arbeiten zu können (45).

Beim Aufbringen von Substanzen auf die Chorionallantoismembran muß berücksichtigt werden, daß schon eine leichte Läsion dieser Membran weitreichende Folgen hat, beispielsweise einen vorzeitigen Schlupf bewirken kann (19).

RIDGWAY und KARNOFSKY (391) führten umfangreiche Studien am Embryo mit der Dotter-Technik durch und überprüften so viele Substanzen. Bei einer Bewertung der Eidotter-Technik ist zu beachten, daß ein großer Teil des Dotters vom Embryo vor dem Schlupf nicht verbraucht wird (266).
Circa 30 % des Dotters bleibt bis zum Schlupftag ungenutzt und wird erst während der ersten sieben Lebenstage nach dem Schlupf resorbiert (317,319). SCHLESINGER (455) beschreibt detailliert die Struktur des Dotters und seine Bedeutung in der Embryogenese. Der während der Embryonalzeit nicht verbrauchte Teil des Dotters stellt somit einen Unsicherheitsfaktor der Dosierung dar. Die Dotter-Technik bietet auch einige technische Probleme. So wurde von LANDAUER (30,455) gefunden, daß bei Farbstoffinjektionen in den Dotter das Zurückbleiben von Farbstoffspuren entlang des Nadelweges unvermeidbar ist.
BOYLEN (43) fand beim Einsatz der Dotter-Technik am 17. Tag schon zwanzig bis dreißig Prozent Ausfälle und bis zu 10 % Mißbildungen bei mitgeführten Kontrollen. So stellt sich das Problem der substanzunabhängigen Wirkungen von Ingestion (276,277) der Injektionsnadel und Injektion (317,462). Eidotter ist ein gutes Lösungsmittel für wasserlösliche, ein schlechtes für fettlösliche Substanzen. Alkoholische Lösungsmittel koagulieren den Dotterinhalt, die extraembryonalen Membranen und den Embryo selbst (483). Werden fettlösliche Substanzen ins Dotter injiziert, so verteilen sie sich nicht und auch feine Emulsionen bilden im Laufe der Zeit wieder größere Tropfen (483).
MOSELY (338) erklärt die mit dieser Technik bei einzelnen Tieren gefundenen großen morphologischen Unterschiede durch die unterschiedlichen Mengen, die zu verschiedenen Zeitpunkten den Embryo erreichen und somit auf verschieden weit entwickelte Embryonen stoßen. Eine zuverlässige Methode erfordert die Exposition mit der Prüfsubstanz in abgestuften Dosen unter definierten Bedingungen. Konzentration, Gesamtdosis und Zeit der Exposition müssen definiert und reproduzierbar sein. Die Injektion in den Eidotter erfüllt diese Bedingungen nicht, da sich viele Substanzen im Dotter nicht gleichmässig verteilen, so daß bei unkontrollierten Bewegungen des in den Dotter injizierten Materials den Embryo plötzlich hohe Konzentrationen erreichen können.

Eine interessante Methode ist die Immersionstechnik, da hierbei eine Anzahl von möglichen Fehlerquellen durch die Injektion, sowie das Risiko einer Infektion reduziert sind. Eine kurze Immersion von Eiern in verschiedene Lösungsmittel allein führt zu keiner Senkung der Schlupfrate und der Fertilität der Eier, wenn die Immersion vor dem 5. Bebrütungstag erfolgt (76,373). Andererseits wurde bei dieser Technik für alle Lösungsmittel, auch Wasser, eine Erhöhung der Mißbildungsrate gefunden (64) .

WURMBACH (512) entschied sich bei den von ihm durchgeführten Untersuchungen für die Injektion der Substanzen in die Luftkammer, da es durch die mechanische Schädigung der Embryonen bei der Applikation in den Dotter zu einer erheblichen Stei-

gerung der Absterberate in frühen Stadien der Embryonalentwicklung kam, die nicht auf die spezifische Wirkung der Testsubstanz zurückgeführt werden konnte. Untersuchungen über die Funktion der Luftkammer stellte EL'IBIARY (109) an. Wasserlösliche Substanzen, in die Luftkammer appliziert, diffundieren rasch und fein verteilt ins Eiweiß, so daß es unpraktisch ist, solche Wirkstoffe direkt ins Eiweiß einzubringen. Farbstoffe, in die Luftkammer injiziert, wandern zwischen äußerer und innerer Schalenmembran herab und diffundieren dann ins Eiweiß (166,167,499). Nicht wasserlösliche Substanzen und Aufschwemmungen werden nicht resorbiert und bleiben auf der inneren Eihaut der Luftkammer liegen (131,512). Die Injektion von fettlöslichen Substanzen in die Luftkammer ist nicht möglich, da diese in die Kalkschale aufgenommen werden und den für den Embryo lebenswichtigen Gasaustausch behindern, so daß der Embryo erstickt oder sich schwere hypoxämisch bedingte Mißbildungen entwickeln (105).

SNEDECOR (436) wählte zur Prüfung der Wirkung von Sexualhormonen im Hühnerei-Modell die Technik der Injektion in das Eiweiß, da sich bei dieser Injektionstechnik eine bessere Absorption des injizierten Materials und weniger mechanische Störungen zeigten als bei der Injektion in den Dotter.

Im Gegensatz zum Dotter wird das Eiweiß während der Embryonalentwicklung vollständig resorbiert und seine Zusammensetzung ist von großer Bedeutung für die Entwicklung des Embryos (266).

Das Eiweiß ist das größte Kompartiment des unbebrüteten Hühnereies und setzt sich zu fast 90 % aus Wasser, zu 10 % aus Proteinen und zu weniger als einem Prozent aus Kohlenhydraten und Lipiden zusammen. Ein 60 g schweres Ei enthält etwa 34 g Eiweiß, 20 g Dotter und 6 g Schale.

Die Zusammensetzung des Eiweißes ändert sich während der ersten Bebrütungstage wenig. Bei weiterer Bebrütung kommt es durch ständigen Wasserentzug zu einer fortschreitenden Konzentration des Eiweißes auf ca. ein Drittel seines ursprünglichen Volumens bis zum 11. Tag der Bebrütung. Der Eiweißrest wird am spitzen Eipol durch die den "Eiweißsack" bildende Chorionallantoismembran, deren Falten durch die chorionamniotische Verbindung verbunden sind, eingeschlossen (130,500). Die Absorption von Proteinen beginnt am vierten Tag. Erst von diesem Zeitpunkt an ist eine Färbung des Embryos über das Eiweiß möglich (166,167). Am 10. Tag der Bebrütung ist der Einschluß des Eiweißes am spitzen Ende des Eies durch die Chorionallantoismembran, die nun die absorptive Oberfläche darstellt, beendet (166,167). Spätestens am 12. oder 13. Tag, nach WITSCHI (470) schon am 9. Tag, wird die chorionamniotische Verbindung durchgängig. Etwa 70 % des Eiweißproteins gelangt damit inner-

halb von 24 Stunden in die Amnionhöhle und zu einem geringeren Teil durch den Dotternabel auch in den Eidotter (130,166,167). Der Fetus beginnt dann die Flüssigkeit und die darin gelösten Proteine zu schlucken, so daß bald der gesamte Intestinaltrakt und während einer kurzen Übergangsperiode auch der Respirationstrakt mit ihr gefüllt sind (500). Bis zum Schlupf wird das gesamte Amnion-Eiweiß geschluckt und größtenteils verdaut. Aus der Amnionhöhle kann die Substanz auch über Resorption durch die die Membranen begleitenden Gefäße den Embryo erreichen (166,167).

Während der Dotter das Energiereservoir des Embryos darstellt (166,167), besteht die Funktion des Eiweißes hauptsächlich darin, eine geeignete wässrige Umgebung zur Embryonalentwicklung aufrecht zu erhalten und dem Embryo als Wasser- und Proteinreservoir, das nur zu etwa 4 % "verbraucht" und fast vollständig in Gewebsprotein umgebaut wird (500), zur Verfügung zu stehen. Weiterhin besitzt es eine gewisse antibakterielle Wirkung (130).

Von LEMBURG (288) und SCHMIDT (456) wird ein Flüssigkeitskreislauf im Ei beschrieben. Ins Eiweiß injizierte Substanzen können demnach durch das Chorionepithel in das extraembryonale Zölom und weiter über das Amnionepithel in die Amnionhöhle gelangen. Nicht sinnvoll ist die Injektion von Polypeptiden direkt ins Eiweiß, da sie dort durch die proteolytischen Eiweißenzyme gespalten werden können. So wird zum Beispiel in den Eiweißraum injiziertes Insulin sehr schnell inaktiviert (166,167).

2. *Experimentelle Untersuchungen am Hühnereimodell*

2.1. *V E R S U C H S B E D I N G U N G E N*

2.1.1. *ZUBEREITUNG DER PRÜFSUBSTANZEN*

Die Zubereitung der Prüfsubstanzen erfolgte in einer "sterilen Bank" (clean bench).
Als Trägermittel wurde für DETC und DOTMal physiologische Kochsalzlösung, für DMTC und DBTC Eiweiß aus Eiern desselben Stammes verwandt.
Das Lösungsverhalten der löslichen und die Suspendierbarkeit der unlöslichen Substanzen wurde durch Erwärmung des Trägermittels und der Substanzen auf 40 - 50^{0} C - DBTC und DOTMal werden bei dieser Temperatur flüssig - und eine beschleunigte Mischung mit einem Glasrührer verbessert.
Das im vorausgehenden Fütterungsversuch untersuchte DOTC wurde am Hühnerembryo nicht geprüft, da es in der beschriebenen Art in geforderter Konzentration weder löslich, noch suspensierbar war, und eine Applikation in das Ei in fester Form aus den diskutierten Gründen nicht in Betracht kommt.

2.1.2. *TIERMATERIAL (EIER)*

Die Untersuchungen wurden durchgeführt mit mehr als 650 befruchteten Hühnereiern aus dem Gelege von Hybriden der weißen Leghornrasse eines gleichen, genetisch kontrollierten Zuchtstammes (Shaver Star, Cross 288). Die Eier hatten in den 5 Bebrütungsserien, die innerhalb von 9 Monaten (Juli 1977 bis April 1978) durchgeführt wurden, ein mittleres Gewicht von 57,6 g (SD ± 1,1g).
Die Eier wurden spätestens 24 Stunden nach dem Ablegen für 24 Stunden in einem kühlen Raum mit dem spitzen Eipol nach unten gelagert, so daß sich die Luftblase und darunter der Dotter mit dem empfindlichen Keim unter dem stumpfen Pol einstellt.

2.1.3. *APPLIKATIONSTECHNIK*

Die Versuchsanordnung entsprach im Prinzip der von KEMPER 1963 (225) beschriebenen Technik und dem von GÜRTTELER 1962 (146) angegebenen "teratologischen Grundversuch" am Hühnchenkeim.
Als Ort der Applikation wurde die Gabe der Substanzen in den Eiweißraum gewählt. Hierbei waren maßgebend einmal die diskutierten Vor- und Nachteile der verschiedenen Applikationstechniken und ein Vergleich von mehr als 200 in der Literatur beschriebenen und in der Tabelle BIII - 1. zusammengestellten Versuchen mit Hühnerembryonen.

Aus dem Eiweiß können Substanzen bis zum 9. Bebrütungstag über den von LEMBURG (288) beschriebenen "Flüssigkeitskreislauf im Hühnerei" durch Vermittlung des Chorion- und Amnionepithels über das extraembryonale Zölom und das Cavum amnii dem Embryo zugeleitet werden. Vom 9. Bebrütungstag an können Substanzen den Embryo direkt über die von WITSCHI (470) beschriebene chorion-amniotische Verbindung zwischen Eiweißsack und Amnionhöhle erreichen.

In der Schale der 24 Stunden mit dem stumpfen Eipol nach oben ruhig gelagerten Eier, deren spitzer Pol mit einem Alkoholtupfer desinfiziert worden war, wurde bei waagerechter Lagerung des Eies mit einem elektrischen Kronenbohrer vorsichtig ein ca. 1 mm Ø großes Loch am spitzen Eipol etwas seitlich versetzt gebohrt, ohne die Eihaut zu verletzen.
Die zubereiteten Prüfsubstanzen wurden mit einer Tuberculinspritze über eine Metallkanüle (Nr. 14) vorsichtig ins Eiweiß durch diese Bohrung am spitzen Eipol instilliert, wobei besonders darauf geachtet wurde, daß keine Luftblasen ins Eiweiß gelangten. Das injizierte Volumen betrug 0,1 ml / Ei, da, wie von KEMPER (225) ermittelt, eine größere Gesamtmenge Störungen des inneren Ei-Milieus bewirkt, die den Keim schädigen kann. Das in die Eischale gebohrte Loch wurde nach der Applikation mit Moltofill^{R} verschlossen.

2.1.4. *BEBRÜTUNG DER EIER*

Die Bebrütung der Eier erfolgte in einer Schuhmacher-Bebrütungsanlage bei dauernder Luftumwälzung zunächst 18 Tage lang

bei 37,8° C (± 0,3° C) und einer relativen Luftfeuchtigkeit von ca. 60 %; dies entspricht optimierten Bebrütungsverhältnissen.
Die Eier wurden alle zwei Stunden automatisch gewendet. Vom 5. Bebrütungstag an wurden die Eier in zweitägigen Abständen bis zur Umlagerung in den Schlupfbrüter am 18. Tag mit einer Quecksilberdampfquarzlampe durchleuchtet; dies wird auch als "Schieren" bezeichnet.
Eine gestörte Entwicklung und ein Absterben der Embryonen läßt sich bei der Durchleuchtung vor allem am Zustand der Blutgefäße, sowie an den Bewegungen des Keimes im Amnion frühzeitig erfassen. Alle beim "Schieren" nicht der Norm entsprechenden Eier mit abgestorbenen Keimen bzw. Embryonen wurden geöffnet und das Entwicklungsstadium makroskopisch anhand der von HAMBURGER und HAMILTON (162) angegebenen Kriterien bestimmt. Besonders wurde auf makroskopisch erkennbare Mißbildungen geachtet. Im Schlupfbrüter wurden die Eier vom 18. Bebrütungstag bis zum Schlupf bei 38° C (± 0,3° C) und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 90 % gehalten.

2.1.5. *BEENDIGUNG DES VERSUCHES*

Der Schlupf der Küken erfolgte bei der Mehrzahl der Tiere in der Nacht vom 21. zum 22. Bebrütungstag. Wenige Tiere schlüpften bereits im Laufe des 21. oder erst im Laufe des 22. Bebrütungstag.
Die Zahl der geschlüpften Küken wurde am Morgen des 22. und 23. Bebrütungstages notiert.
Die geschlüpften Küken wurden dem Schlupfbrüter entnommen, gewogen und ihre Lebensfähigkeit und Reife bestimmt (regelmäßige Atmung, Dottersackretraktion, Standfähigkeit, Lauffähigkeit).
Nach Tötung der Tiere durch Dekapitierung wurden sie auf makroskopisch erkennbare Mißbildungen (speziell des Schnabels, der Augen, des Schädels, der Flügel, Beine und Füße) und auffällige Organveränderungen hin untersucht.
Das Gewicht von Thymus, Bursa Fabricii und Milz wurde bestimmt.
Am Morgen des 23. Bebrütungstages wurden die Eier, aus denen

kein Schlupf erfolgt war, geöffnet. Es fanden sich keine lebenden Küken in den Eiern. Das Entwicklungsstadium der abgestorbenen Embryonen wurde anhand der Kriterien von HAMBURGER und HAMILTON (162) bestimmt und es wurde nach Mißbildungen der Tiere gefahndet.

2.2. E R G E B N I S S E

Die Ergebnisse dieses Versuchsabschnitts sind auf den folgenden Seiten tabellarisch und graphisch dargestellt. Deutlich ist eine Dosisabhängigkeit der Absterberate in den Eiern feststellbar und so läßt sich nach den Grundsätzen der Ermittlund einer LD_{50} auch bei diesem Modell die Dosis feststellen, bei der 50 % aller Keime bis zum Schlupftag absterben. Aus diesem Zahlenwerk wurde die LD_{50} nach LITCHFIELD und WILCOXON (476) berechnet und betrug für:

DMTC:	10,2 mg/kg Ei	(8,5 - 12,2 mg/kg)*
DETC:	1,8 mg/kg Ei	(1,4 - 2,3 mg/kg)*
DBTC:	0,96 mg/kg Ei	(0,79 - 1,16 mg/kg)*
DOTMal:	6,2 mg/kg Ei	(3,3 - 11,8 mg/kg)*

(*: 95 % Vertrauensintervall)

Eine Erhöhung der Mißbildungsrate konnte in keiner Versuchsgruppe im Vergleich mit der Kontrollgruppe festgestellt werden. Bemerkenswert ist auch, daß selbst in den Gruppen mit den höheren Dosierungen keine Ablagerungen von Prüfsubstanzen oder eine Ausfällung im Eiweiß beobachtet wurde. Dies ist umso erstaunlicher, als besonders DETC und DOTMal in vitro Eiweiß leicht ausfällen.

Zu jeder Prüfsubstanz sind neben den Letalitätsverlaufskurven die aus den Absterberaten abgeleiteten Darstellungen zur Ermittlung der akuten Toxizität (LD_{50}) wiedergegeben.
Von Interesse in diesen Untersuchungen war die Beobachtung, daß das Schlupfgewicht der Küken aus behandelten Eiern nicht von dem der Kontrolltiere abwich, und der Schlupf auch weder verzögert noch vorzeitig eintrat.

Eine statistische Auswertung der entsprechenden Organgewichte von Thymus, Bursa Fabricii und der Milz wurde nur in den Versuchsgruppen durchgeführt, bei denen mehr als 50 % der Küken geschlüpft waren, während eine statistische Auswertung in den Gruppen mit mehr als 50 % Absterberate nicht sinnvoll erschien. In der Tabelle BIII - 4 und den Abbildungen BIII - 10 bis BIII - 15 sind die Organgewichte dieser Untersuchungen dargestellt.

Eine deutliche Verminderung sowohl des absoluten als auch des relativen Thymus- und Milzgewichtes findet sich nach Applikation von DMTC und DOTMal sowie in der höheren Dosierung von DBTC. In den gleichen Gruppen war auch, wenn auch nicht so ausgeprägt, das Gewicht der Bursa Fabricii erniedrigt. In der geringen Dosierung zeigte DBTC (0,025 mg) nur noch eine geringe Verminderung des Thymusgewichtes und keine Abweichungen des Gewichtes von Bursa Fabricii und Milz. Nach Applikation von DETC konnte in keiner Versuchsgruppe eine Beeinflussung des Gewichtes der lymphatischen Organe festgestellt werden.

Die Einzelergebnisse sind auf den nachfolgenden Tabellen und den hierzu gehörigen graphischen Darstellungen erläutert.

Tab. BIII - 3: Teratogenität und Embryotoxizität einiger Dialkylzinn-Verbindungen im Hühnereitest.

	Dosis/Ei	Schlupf	mittlere Überlebenszeit/Embryo	Mißbildungen
	(mg)	(%)	(d)	(%)
DMTC	2	5	6,1	-
	1	21	13,4	5
	0,5	80	19,7	3
	0,2	97	20,8	-
DETC	2	0	1,9	-
	1	0	2,6	-
	0,5	0	2,9	-
	0,2	0	7,8	3
	0,1	71	17,0	-
	0,05	85	19,8	-
DBTC	4	0	2,5	-
	1	0	3,1	-
	0,5	0	5,7	-
	0,2	3	5,6	-
	0,1	10	12,2	-
	0,05	83	20,1	-
	0,025	90	20,5	-
DOTMal	5	8	11,2	4
	2	31	12,7	4
	1	35	14,8	3
	0,5	46	16,1	4
Kontrolle (n=85)	-	89	20,8	5

Abb. BIII - 2: Letalitäts-Verlaufskurven von Hühnerkeimen (-embryonen) nach Injektion von 2 mg, 1 mg, 0,5 mg oder 0,2 mg DMTC in das Eiklar vor Beginn der Bebrütung.
(Abszisse: Bebrütungszeit; Ordinate = Absterberate in %)

Abb. BIII - 3: Letalitäts-Verlaufskurven von Hühnerkeimen (-embryonen) nach Injektion von 2 mg, 1 mg, 0,5 mg, 0,2 mg, 0,1 mg oder 0,05 mg DETC in das Eiklar vor Beginn der Bebrütung.
(Abszisse: Bebrütungszeit; Ordinate = Absterberate in %)

Abb. BIII - 4: Letalitäts-Verlaufskurven von Hühnerkeimen (-embryonen) nach Injektion von 4 mg, 1 mg, 0,5 mg, 0,2 mg, 0,1 mg, 0,05 mg oder 0,025 mg DBTC in das Eiklar vor Beginn der Bebrütung.
(Abszisse: Bebrütungszeit; Ordinate = Absterberate in %)

Abb. BIII - 5: Letalitäts-Verlaufskurven von Hühnerkeimen (-embryonen) nach Injektion von 5 mg, 2 mg, 1 mg oder 0,5 mg DOTMal in das Eiklar vor Beginn der Bebrütung.
(Abszisse: Bebrütungszeit; Ordinate = Absterberate in %)

Legende zu Abb. BIII - 2 bis Abb. BIII - 5:

Dosis/Ei der vor Bebrütungsbeginn in das Eiklar injizierten Diorganozinn-Verbindung:

5	mg	- - - - -
4	mg	◆◆◆
2	mg	~~~~~~~~
1	mg	●●●●●●●●●
0,5	mg	═══════
0,2	mg	= = = = =
0,1	mg	....
0,05	mg	★★★★★★
0,025	mg	▲ ▲ ▲ ▲

Abb. BIII - 6: Darstellung zur Ermittlung der akuten Toxizitäten (LD_{50}) nach Injektion von DMTC in Hühnereier (Abszisse: Dosis (mg/kg Ei); Ordinate: Absterberate (%))

Abb. BIII - 7: Darstellung zur Ermittlung der akuten Toxizitäten (LD_{50}) nach Injektion von DETC in Hühnereier (Abszisse: Dosis (mg/kg Ei); Ordinate: Absterberate (%))

Abb. BIII - 8: Darstellung zur Ermittlung der akuten Toxizitäten (LD_{50}) nach Injektion von DBTC in Hühnereier (Abszisse: Dosis (mg/kg Ei); Ordinate: Absterberate (%))

Abb. BIII - 9: Darstellung zur Ermittlung der akuten Toxizitäten (LD_{50}) nach Injektion von DOTMal in Hühnereier (Abszisse: Dosis (mg/kg Ei); Ordinate: Absterberate (%))

Abb. BIII - 10: Thymusgewicht (mg) der geschlüpften Küken nach Gabe von Organozinn-Verbindungen in verschiedenen Konzentrationen (mg/Ei) ins Hühnerei vor Bebrütungsbeginn ($\overline{x}$ + SD)

Abb. BIII - 11: Thymusgewicht (g) bezogen auf 100 g KG der geschlüpften Küken nach Gabe von Organozinn-Verbindungen in verschiedenen Konzentrationen (mg/Ei) ins Hühnerei vor Bebrütungsbeginn ($\overline{x}$ + SD)

Abb. BIII - 12: Bursa Fabricii-Gewicht (mg) der geschlüpften Küken nach Gabe von Organozinn-Verbindungen in verschiedenen Konzentrationen (mg/Ei) ins Hühnerei vor Bebrütungsbeginn ($\overline{x}$ + SD)

Abb. BIII - 13: Bursa Fabricii-Gewicht (g) bezogen auf 100 g KG der geschlüpften Küken nach Gabe von Organozinn-Verbindungen in verschiedenen Konzentrationen (mg/Ei) ins Hühnerei vor Bebrütungsbeginn ($\overline{x}$ + SD)

Abb. BIII - 14: Milzgewicht (mg) der geschlüpften Küken nach Gabe von Organozinn-Verbindungen in verschiedenen Konzentrationen (mg/Ei) ins Hühnerei vor Bebrütungsbeginn ($\overline{x}$ + SD)

Abb. BIII - 15: Milzgewicht (g) bezogen auf 100 g KG der geschlüpften Küken nach Gabe von Organozinn-Verbindungen in verschiedenen Konzentrationen (mg/Ei) ins Hühnerei vor Bebrütungsbeginn ($\overline{x}$ + SD)

DMTC

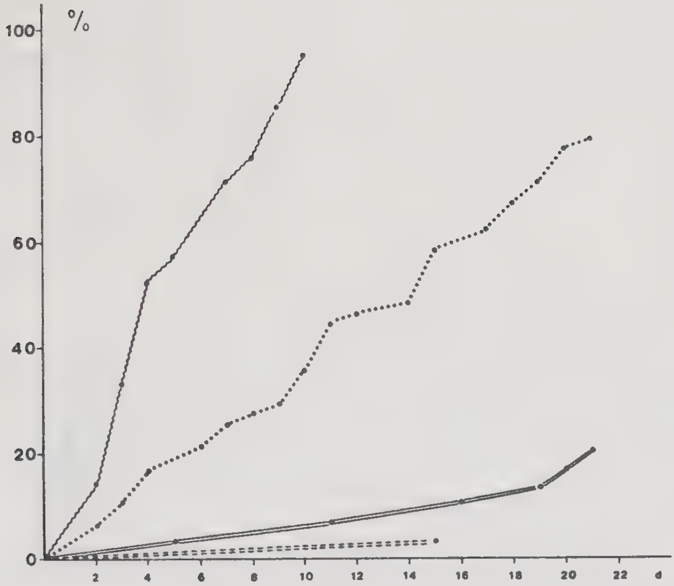


Abb. B III - 2

DETC

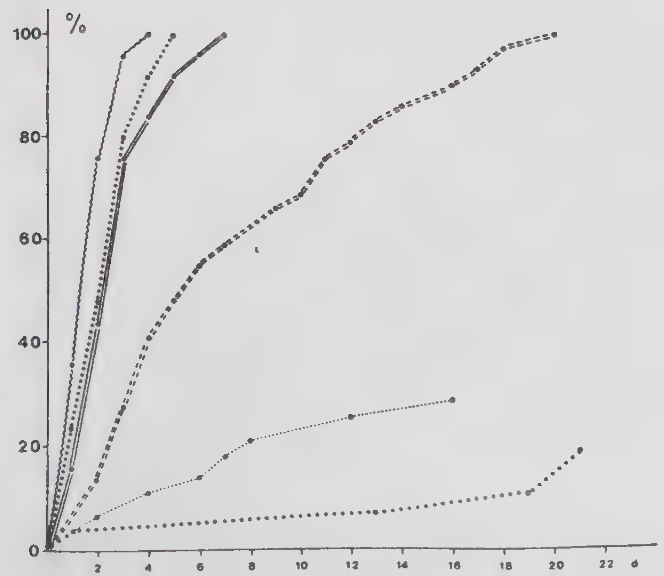


Abb. B III - 3

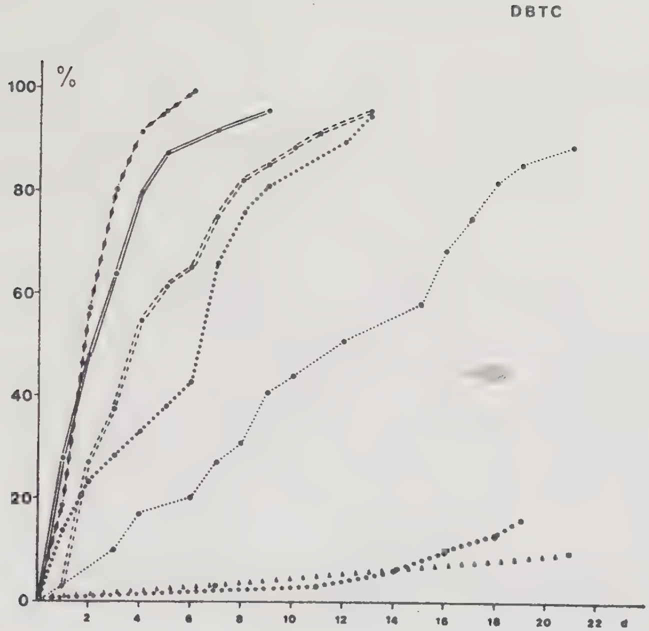


Abb. 8 III - 4

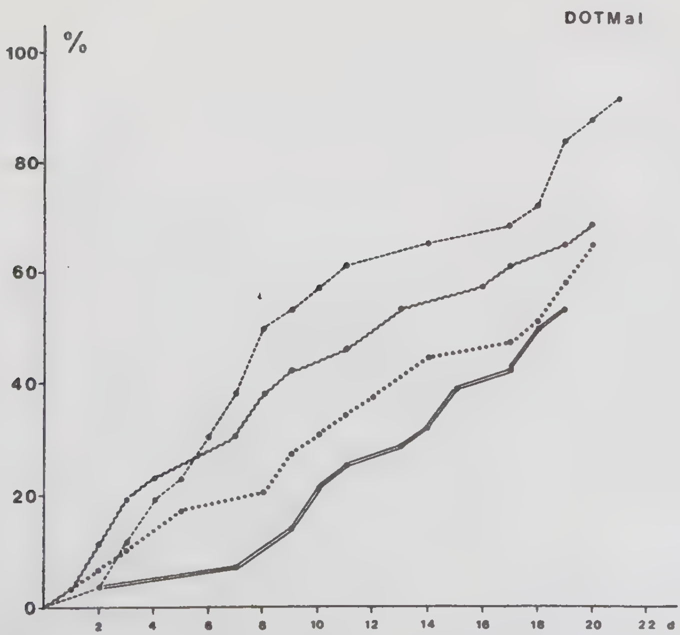


Abb. 8 III - 5

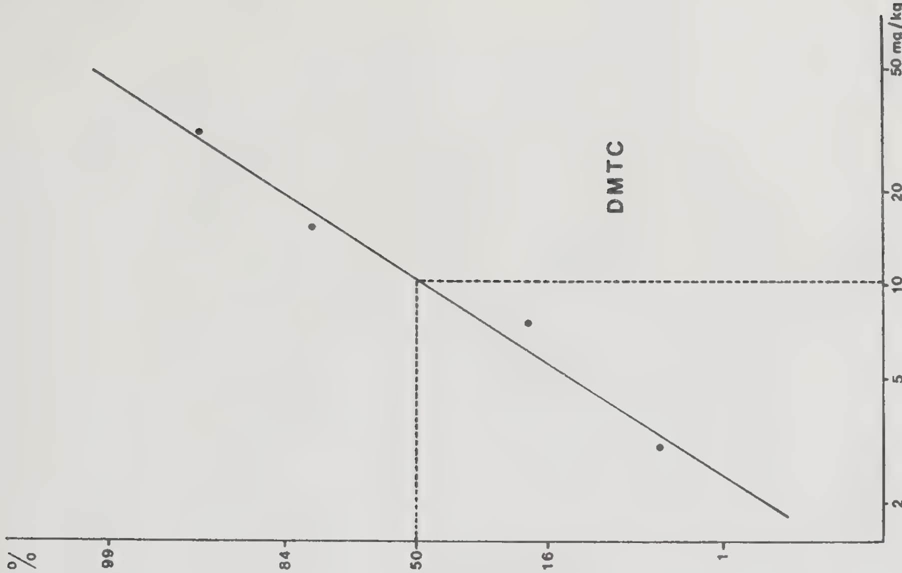


Abb. B III - 6

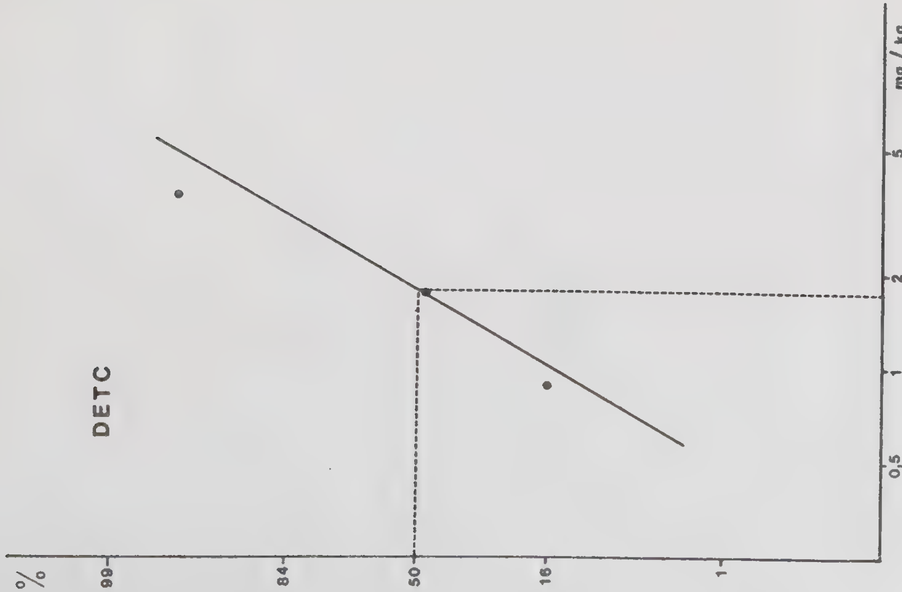


Abb. B III - 7

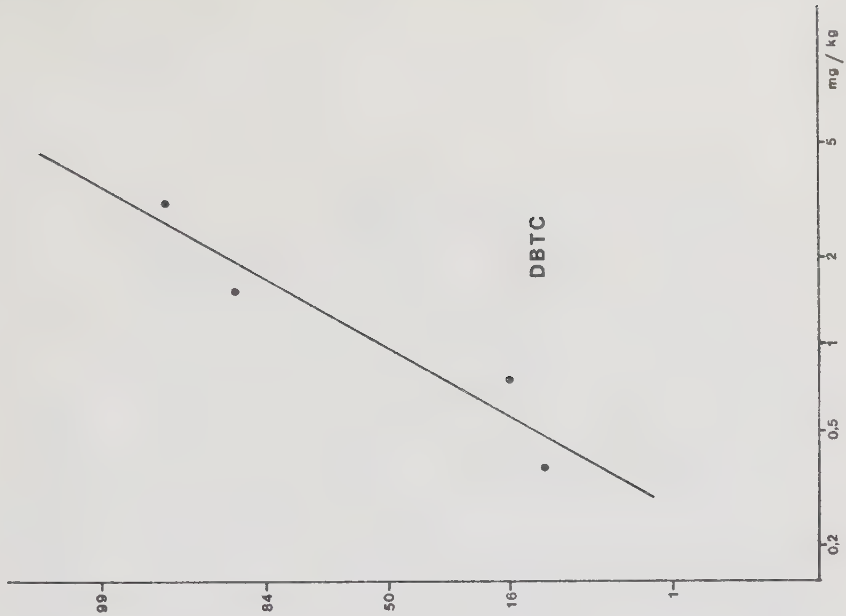


Abb. B III - 8

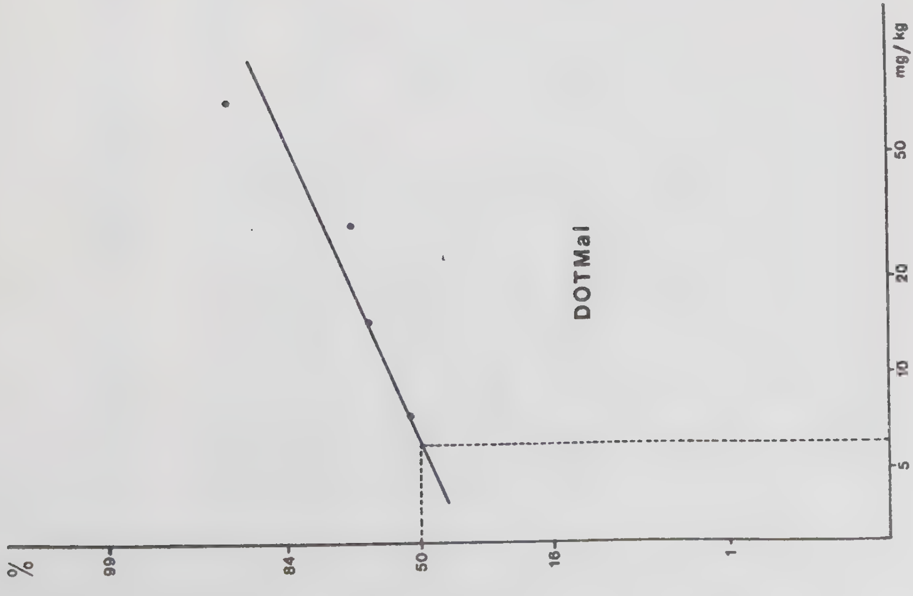


Abb. B III - 9

Tab. B III - 4 : Gewicht der primär lymphatischen Organe frisch geschlüpfter Küken nach Gabe verschiedener Dialkylzinn-Verbindungen ins Eiklar vor Bebrütungsbeginn

Substanz		K	DMTC		DETC		DBTC		DOTMal
Dosis / Ei	(mg)		o,5oo	o,2oo	o,1oo	o,o5o	o,o5o	o,o25	o,5oo
Tiere		14	24	28	2o	22	25	26	13
Thymus	(mg)	93,2	59,5	55,o	86,4	86,1	62,9	76,3	62,9
SD	(mg)	29,5	18,6	16,3	18,4	16,o	16,3	17,1	21,4
			a	a			a	e	c
Thymus / 1oo g KG	(g)	o,255	o,164	o,149	o,216	o,218	o,1[illegible]2	o,2o6	o,169
SD	(g)	o,o84	o,o51	o,o43	o,o46	o,o4o	o,o47	o,o46	o,o59
			a	a			a	e	b
Bursa fabricii	(mg)	4o,6	31,7	31,9	44,2	46,8	33,6	42,o	31,9
SD	(mg)	11,1	11,7	1o,2	11,2	14,o	1o,1	13,7	7,6
			f	d					f
Bursa fabricii / 1oo gKG	(g)	o,11o	o,o87	o,o86	o,11o	o,119	o,o92	o,114	o,o86
SD	(g)	o,o31	o,o32	o,o28	o,o29	o,o37	o,o27	o,o57	o,o2o
			e	d			f		e
Milz	(mg)	14,3	1o,1	1o,1	13,9	13,9	1o,3	13,2	1o,8
SD	(mg)	2,1	2,o	2,9	2,1	2,5	3,2	2,8	2,7
			a	a			a		a
Milz / 1oo g KG	(g)	o,o39	o,o28	o,o28	o,o35	o,o35	o,o29	o,o36	o,o29
SD	(g)	o,oo7	o,oo5	o,oo8	o,oo5	o,oo6	o,oo7	o,oo8	o,oo6
			a	a			a		a

Signifikanz des Unterschiedes zur Kontrollgruppe :
a : p < 0,001; b : p < 0,005; c : p < 0,01; d : p < 0,02; e : p < 0,025; f : p < 0,05

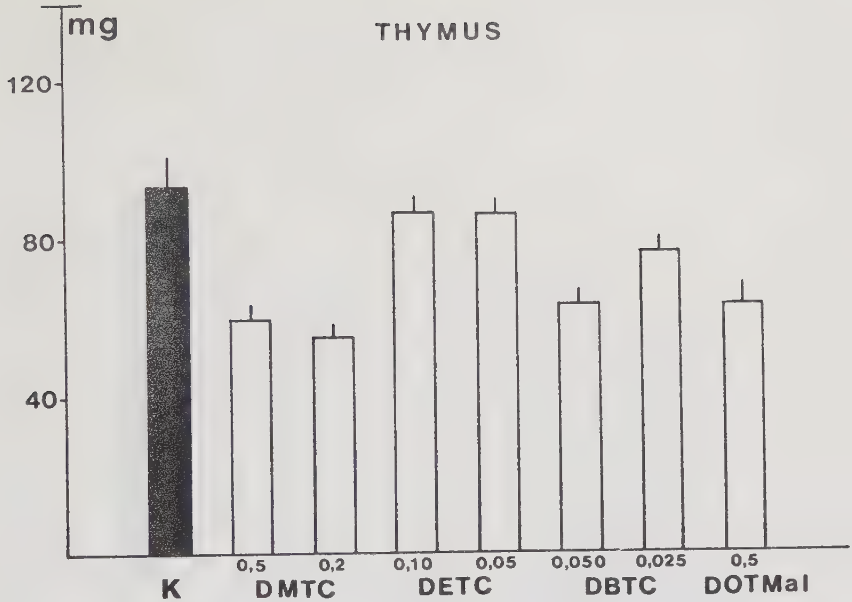


Abb. 8 III - 10

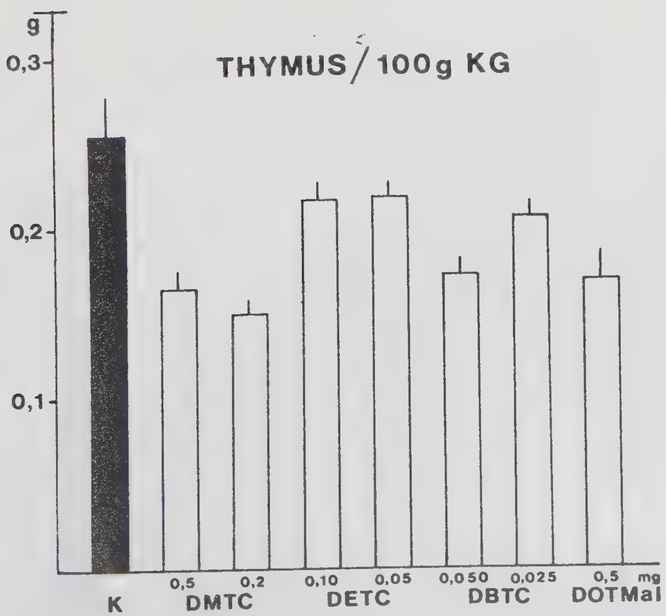


Abb. 8 III - 11

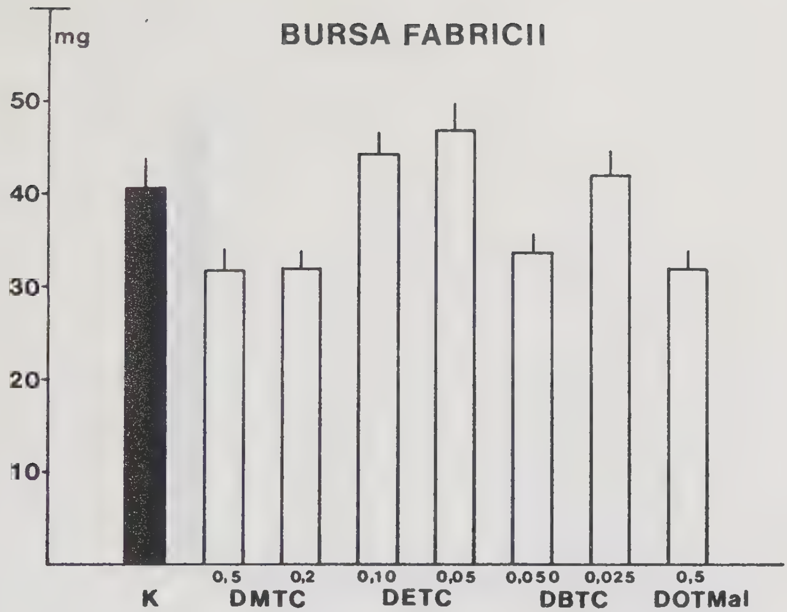


Abb. B III - 12

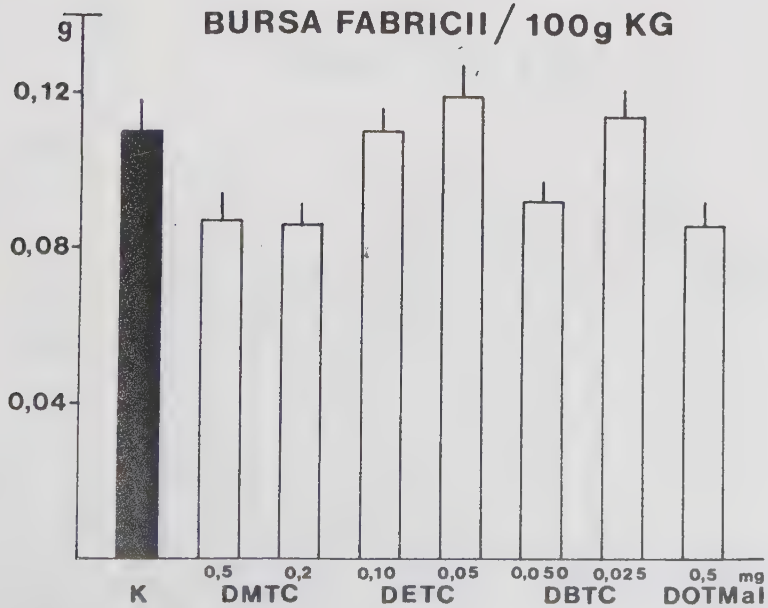


Abb. B III - 13

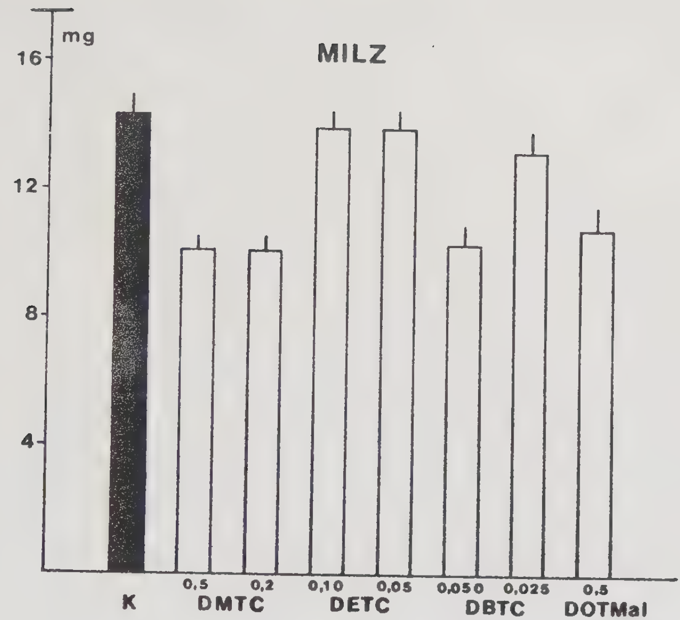


Abb. B III - 14

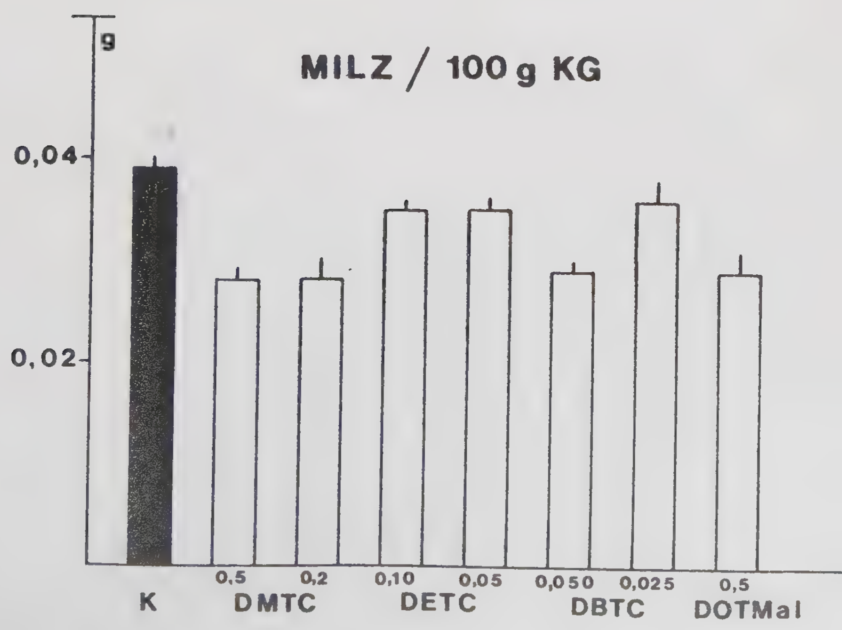


Abb. B III - 15

C: *D i s k u s s i o n der Ergebnisse*

Die zunehmende Bedeutung organischer Zinnverbindungen, die in industriellen Fertigungsprozessen benutzt werden, aber auch in Bedarfsgegenständen Verwendung finden und damit unmittelbar auf den Verbraucher einwirken können, hat es notwendig gemacht, weitere eingehende toxikologische Untersuchungen mit dieser Substanzgruppe durchzuführen. Hierbei waren vor allem neuere Untersuchungsbefunde maßgebend, die eine Beeinflussung des lymphatischen Systems als Träger der Immunreaktion erkennen ließen.

So war es Aufgabe der eigenen experimentellen Untersuchungen, an einem geeigneten Modell die Toxizität und Embryotoxizität einiger vielbenutzter Stoffe dieser Gruppe zu untersuchen. Zudem sollten die Untersuchungen die Möglichkeit der Benutzung eines Experimentalmodells überprüfen, das als Alternative zum "klassischen" Tierversuch an der Ratte geeignet war. Hierzu bot sich das Hühnerei (Hühnerembryo) bzw. das Hühnerküken an, da bei Vögeln zwei primär lymphatische Organe, die Thymusdrüse und die Bursa Fabricii anatomisch klar definiert beobachtet werden können. Dieses Modell ist zudem in großer Stückzahl einheitlich aus genetisch determinierten Stämmen auch unter ökonomischen Bedingungen zu erhalten.

Aufgabe der vorliegenden Untersuchungen war die Prüfung folgender Substanzen: Dimethylzinn-Dichlorid (DMTC), Diäthylzinn-Dichlorid (DETC), Dibutylzinn-Dichlorid (DBTC), Dioctylzinn-Dichlorid (DOTC) sowie Dioctylzinn-Maleinat (DOTMal). DMTC findet Verwendung bei der Vergütung von Glasoberflächen als Katalysator und Korrosionshemmer, während DETC als Ausgangssubstanz zur Herstellung anderer organischer Zinnverbindungen dient und in der Veterinärmedizin auch als Anthelmintikum Verwendung findet. DBTC ist ebenfalls Ausgangssubstanz bei der Herstellung verschiedener Kunststoffstabilisatoren und findet Verwendung als nichtfärbendes Antioxidationsmittel in Gummi, als Fungizid und Bakterizid und auch als Katalysator bei der Polyesterherstellung und Olefin-Dimerisation. DOTC wird in großen Mengen als Ausgangssubstanz bei der Stabilisatorherstellung für Kunststoffe verwendet, so auch bei der Produktion von DOTMal.

Die eigenen Untersuchungen gliederten sich in verschiedene Abschnitte mit jeweils unterschiedlichen Zielen. So erfolgte zunächst die Bestimmung einer akuten, oralen Toxizität der Prüfsubstanzen (LD_{50}), die im Abschnitt B I beschrieben sind. Weiter erfolgte die Bestimmung einer subakuten, oralen Toxizität der Prüfsubstanzen in einem Fütterungsversuch, bei dem über 14 Tage die Prüfsubstanz mit der Schlundsonde zugeführt wurde (B II). In einem dritten Abschnitt wurden Untersuchungen zum Einfluß der Prüfsubstanzen auf die embryonale Entwicklung untersucht; Embryolethalität, Embryotoxizität und Teratogenität (B III).

In den eigenen Untersuchungen am Hühnerei konnte keine Erhöhung der Mißbildungsrate festgestellt werden, obwohl ein Dosisbereich untersucht wurde, der auch subtoxische Mengen der Prüfsubstanzen einschloß.

Die von MCLAUGHLIN und anderen (317,319), allerdings bei Applikation der Substanz in den Eidotter, für Dibutylzinn-Dilaurat beschriebene Teratogenität der Verbindung konnte für die in den eigenen Versuchen untersuchten Verbindungen nicht bestätigt werden. Hierfür können mehrere Gründe maßgebend sein. So ist bekannt, daß die Injektion in den Eidotter von selbst pharmakologisch inerten Stoffen wie Quarz offenbar über mechanische Einwirkung zu Mißbildungen führen kann, während die gleichen Stoffe bei Injektion in das Eiklar keinerlei Wirkungen zeigen.

Auffallend war eine ausgeprägte Embryotoxizität der geprüften Dialkylzinn-Verbindungen. Im Gegensatz zu den Befunden am Hühnerküken nach oraler Applikation oder den bei Ratten erhaltenen Vergleichswerten ist der Hühnerembryo offenbar erheblich empfindlicher. Die Embryotoxizität der Substanzen nimmt in der Reihenfolge DBTC, DETC, DOTMal, DMTC ab. Hierbei fand sich eine Dosis ohne Beeinflussung der Lebensfähigkeit der Embryonen für

DBTC	bei	0,025	mg / Ei,
DETC	unter	0,05	mg / Ei,
DOTMal erheblich	unter	0,5	mg / Ei und
DMTC	bei	0,2	mg / Ei.

Berücksichtigt man aber die Wirkung der Substanzen auf das lymphatische System, besonders die Thymusentwicklung, so wird man die Prüfsubstanzmengen unter denen kein Effekt auf den heranwachsenden Keim mehr zu beobachten ist, für DBTC, DOTMal und DMTC noch erheblich niedriger annehmen müssen. Nur DETC zeigte in diesen Untersuchungen keine das lymphatische System beeinflussende Wirkung. Dieses steht in guter Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Untersuchungen an jungen Hühnerküken.

Betrachtet man die Embryotoxizität der einzelnen Verbindungen, so ergibt sich auch hieraus eine Begründung für die Verordnung (59) nach der ein Einsatz der untoxischeren Dioctylzinn-Verbindungen als Stabilisatoren in Kunststoffartikeln, die mit Nahrungsmitteln Kontakt haben, zugelassen wird und nicht die aus produktionstechnischen Gründen bei der Kunststoffherstellung sonst gebräuchlicheren Dibutylzinn-Verbindungen.
Hingewiesen werden muß aber darauf, daß die besondere toxikologische Empfindlichkeit des Hühnerembryos durchaus richtungsweisend sein kann, da auch an Ratten eine auffällige Embryotoxizität, beispielsweise von DOTC beobachtet wurde (350).
Dennoch ist zu diskutieren, welche Mengen Organozinn den Säugerembryo diaplazentar erreichen, welche maternen Detoxifikations- oder Giftungsmechanismen die Wirkung der Substanzen verändern und welche Wirkung die permanente Zufuhr kleinster Mengen hat, wie sie etwa über Nahrungsmittel aufgenommen werden können; alles dies ist noch weitgehend unbekannt.

Die Untersuchungsergebnisse zeigen aber, daß das Versuchsmodell des Hühnerembryos als Beispiel eines schnell wachsenden und sich rasch differenzierenden Systems mit hoher metabolischer Aktivität, ein empfindlicher Detektor sowohl für allgemeintoxische, als auch für organspezifische Wirkungen ist und sich zur Überprüfung fraglich teratogener und toxischer Substanzen eignet.

Die Absterberate der Embryonen in der Kontrollgruppe ist in den letzten 4 Bebrütungstagen am höchsten. Die Tatsache, daß normalerweise die Mortalität der Hühnerembryonen in den zwei "kritischen Phasen", den ersten 2-3 Tagen und den letzten 5 Bebrütungstagen, besonders hoch ist, wird von mehreren Autoren beschrieben (64,81,194,266). Die Mortalität in der ersten "kritischen Periode" hängt sehr von der Einhaltung optimaler Bebrütungsbedingungen, wie Temperatur, Luftfeuchtigkeit und Wendefrequenz ab. Nach LANDAUER (266) sind verschiedene Stoffe bekannt, die die Absterberate bevorzugt in einer dieser "kritischen Perioden" erhöhen. Es gibt aber auch Stoffe, die eine erhöhte Absterberate in allen Stadien der embryonalen Entwicklung bewirken: hierzu gehören die Organozinn-Verbindungen.
Dem Einwand, daß die Verteilung von Prüfsubstanzen bei Gabe in das Eiklar unzureichend sei, kann durch zwei Tatsachen begegnet werden. Sie sprechen für eine gleichmäßige Verteilung der applizierten Substanzen und eine kontinuierliche Exposition des Embryos und zeigen somit auf, daß die Injektion von Substanzen in das Eiweiß eine geeignete Applikationstechnik zur Überprüfung der Embryotoxizität der Substanzen darstellt:

1. Bei der Öffnung der Eier, deren Embryonen abgestorben waren, ließen sich selbst bei den höchsten Dosierungen keine lokalen Ansammlungen der injizierten Prüfsubstanz finden. Auch wurden weder ausgefällte Proteine, noch verklebte embryonale oder extraembryonale Membrane beobachtet, wie sie sich unter Gabe des unlöslichen DOTC's in fester Form in Vorversuchen darstellten, so daß diese Versuche nicht weitergeführt wurden.

2. Es traten keine "Absterbespitzen" auf. Diese würde man um den 9. - 12. Bebrütungstag erwarten, wenn die Substanz nicht den Embryo gleichmäßig während seiner gesamten Entwicklung entsprechend dem "Flüssigkeitskreislauf im Hühnerei" (288) erreicht hätte. In diesen Tagen öffnet sich nämlich die chorion-amniotische Verbindung (500) und es kommt sehr schnell zum direkten Kontakt zwischen Embryo und Eiklar mit den möglicherweise darin in höherer Konzentration vorliegenden Prüfsubstanzen, wenn diese nicht gleichmäßig verteilt sind.

Bei einem Vergleich der akuten Toxizität der untersuchten Dialkylzinn-Verbindungen, die als orale LD_{50} am Küken bestimmt wurde, mit den in der Literatur für andere Spezies beschriebenen akuten Toxizitätswerten (vgl. Tab. C-1), findet die Tatsache Bestätigung, daß mit zunehmender Länge der Alkylketten die Toxizität abnimmt. Weiterhin wird die offenbar etwas geringere Empfindlichkeit von Hühnern diesen Substanzen gegenüber deutlich, eine Beobachtung, die bereits aus der Veterinärmedizin bekannt ist, wo Alkylzinn-Verbindungen als Anthelmintika benutzt werden. Das Vergiftungsbild ähnelt den von anderen Untersuchern an anderen Spezies beobachteten Erscheinungen. Die beobachteten Krämpfe und Lähmungserscheinungen der hinteren Extremitäten lassen an eine mögliche Verunreinigung der Substanzen, deren Reinheitsgrad unbekannt war, durch Triorganozinn-Verbindungen denken, allerdings wurde bei subakuter Applikation derselben Substanzen kein Hinweis auf das für Triorganozinn-Verbindungen typische Hirnödem gefunden.

Bei subakuter Applikation kleinerer, akut untoxischer Mengen der Prüfsubstanzen konnte eine kumulative Wirkung besonders unter DMTC, nicht aber bei DETC festgestellt werden. Bei der Beeinflussung der Körpergewichtsentwicklung zeigten die beiden geprüften Dioctylzinn-Verbindungen ein fast identisches Verhalten, so daß angenommen werden muß, daß die beobachteten Wirkungen auch durch andere Dioctylzinn-Stabilisatoren und nicht nur durch das Spaltprodukt DOTC, dessen Migrationstendenz aus dem Kunststoff ja viel kleiner als die des Orginalstabilisators ist (415), bewirkt wird.
Eine geringe Vermehrung des relativen Lebergewichtes kann erstes Anzeichen toxisch-metabolischer Induktion sein, wie diese auch von einigen Autoren für andere Spezies beschrieben wurde.

Die an den lymphatischen Organen gefundenen Veränderungen entsprechen in der Art, aber nicht im Umfang den schon von SEINEN et al (420,421,422,423) an Ratten beschrieben Beobachtungen einer spezifischen Thymusreduktion durch Dialkylzinn-Verbindungen. Die Wahl des Huhns als Versuchstier ermöglichte

Tab. C-1:

Vergleichende Gegenüberstellung der am Hühnerküken bestimmten und der in der Literatur für andere Spezies beschriebenen akuten Toxizitätswerte einiger Dialkylzinn-Verbindungen
(Angaben in mg / kg)

Substanz	orale LD_{50} für das Küken (Alter: 3 Tage)	95 % Vertrauens-intervall	orale LD_{50} in der Literatur beschrieben	Spezies	Literaturangabe
DMTC	120	73 - 197	73,9	Ratte	van der Kerk, 1975 (228)
DETC	330	236 - 462			
DBTC	320	267 - 384	100	Ratte	Klimmer u. Nebel, 1960 (252)
			126	Ratte	van der Kerk, 1975 (228)
			200 - 400	Ratte	Barnes u. Stoner, 1958 (23)
DOTC	>10000		7000	Ratte	van der Kerk, 1975 (228)
			5500 - 8500	Ratte	Klimmer, 1969 (251)
DOTMal	3500	3220 - 3805	2250	Maus	Pelikan, 1970 (363)
			4500	Ratte	Klimmer, 1969 (251)

aber auch die Feststellung einer gleichfalls erfolgenden Involution der Bursa Fabricii, obwohl die Thymus-Reduktion stets ausgeprägter war.
Die embryotoxikologischen Untersuchungen zeigten zudem, daß eine gleichartige Reduktion des Thymus und der Bursa Fabricii auch schon bei Applikation der Substanzen während der Embryonalentwicklung eintritt.
Im Unterschied zu den von SEINEN u.a. (420,421,422,423) gemachten Beobachtungen konnte am Hühnerküken eine Thymus- und Bursa Fabricii-Reduktion auch unter DMTC, nicht aber unter DETC, erzielt werden. Die fast identischen Ergebnisse nach Applikation von DOTC und DOTMal deuten auf die Bedeutung des Dialkylzinn-Restes als biologisch wirksame Konfiguration hin.

Die neben der Verminderung des Thymus beobachtete Bursa Fabricii-Reduktion steht nicht unbedingt im Widerspruch zu der von SEINEN postulierten und durch eine Reihe immunologischer Tests fundierten "selektiven Thymektomie" durch Dialkylzinn-Verbindungen an der Ratte mit spezieller Beeinflussung des T-abhängigen lymphatischen Gewebes.
Die Kenntnisse auf immunologischem Gebiet sind wohl noch zu gering um ohne Schwierigkeiten Parallelitäten zwischen der Entwicklung und Funktion des lymphatischen Systemes bei Säugern und Vögeln zu ziehen.
HESS (177) meinte: "The development of the bursa of Fabricius as a gut-associated lympho-epithelial organ in birds appears to be an unique step in evolution."
Die Frage nach einem Säugeranalogon der Bursa Fabricii, zur Auswahl stehen: Knochenmark, Peyersche Plaques, Appendix vermiformis, Tonsillen, ist zudem noch nicht endgültig beantwortet. Zu erwähnen sind in diesem Zusammenhang auch die verschiedenen, von der Bursa Fabricii und/oder dem Thymus gebildeten Faktoren, die beispielsweise die Immunzellproliferation und -differenzierung und die Entwicklung der Immunkompetenz fördern sollen. Einige dieser Faktoren stehen in Wechselwirkung mit anderen bekannten Hormonen und beeinflussen andere endokrine Drüsen, Wachstum, Skelettentwicklung und Kohlehydratstoffwechsel (177, 293,329,511).

Nicht nur Thymusfaktoren beeinflussen andere endokrine Organe, sondern auch andere Hormone greifen in die Thymusaktivität ein. NNR-Hormone und ACTH bewirken eine starke Thymusinvolution, die experimentell in "Stress"-Situationen nachweisbar ist. Beim Morbus ADDISON oder nach Adrenalektomie kommt es vielfach zu einer Thymushypertrophie mit erhöhter Lymphomrate. Die Sexualhormone bewirken ebenfalls eine Thymusinvolution. So ist der weibliche Thymus primär grösser als der männliche. Weiterhin sind die temporäre Thymusinvolution während der Schwangerschaft und die leukämogene Wirkung hochdosierter Oestrogene beobachtet worden.
Schilddrüsenhormone führen zur Lymphopoesesteigerung, wie aus der Pathologie des Morbus BASEDOW bekannt ist, und STH hat auch auf den Thymus eine wachstumsfördernde Wirkung (177,293,329,511).
Eine direkte oder indirekte Wirkung der Organozinn-Verbindungen auf das lymphatische System durch einen Eingriff in dieses komplizierte System von Wechselwirkungen zwischen den endokrinen Hormonen einerseits und den Thymusfaktoren andererseits ist nicht auszuschließen. SEINEN (423) beschriebener Wirkmechanismus der Dialkyl-Verbindungen auf den Sauerstoffverbrauch, die Glucoseutilisation und DNA-Synthese der Zellen könnte darüberhinaus einen spezifischen Effekt auf das Immunsystem darstellen.

Die Befunde zur Toxizität der untersuchten Prüfsubstanzen bedürfen natürlich eines Vergleiches mit den in der Literatur beschriebenen Migrationswerten dieser Substanzen, die aus Kunststoffen, beispielsweise Folien, in die verpackten Nahrungsmittel eindringen können. Unter realitätsnahen Versuchsbedingungen wurden bei einem Stabilisatorgehalt von 1,34 bis 2,50 Gew.-% für Dioctylzinn-Stabilisatoren Migrationswerte von 2-3 ppm in fettreiche Nahrungsmittel beschrieben (31,116, 110,121,368,375,391,415,417,494,501), die nach WOGGON u.a. (501) auch durch einen Weichmacheranteil <3 Gew.-% kaum beeinflußt werden. Dieses würde bei einer mit Absicht hoch angesetzten täglichen Fettaufnahme von 100 g für einen 70 kg schweren Menschen einer täglichen Organozinnaufnahme von ca. 0,004 mg/kg entsprechen.

In den Fütterungsversuchen am Hühnerküken wurde gefunden, daß Dioctylzinn (in der Form des DOTC) noch in der Größenordnung von 100 mg/kg pro Tag einen, wenn auch nur geringen, Effekt auf den Thymus des Kükens ausübt. Geht man von einem um eine Größenordnung niedrigeren "No-effect-level" aus, so erhält man einen Wert, der über der von SEINEN (421) an Ratten postnatal als wirksam gefundenen (5 mg/kg, 3x/Woche) und unter der von HENNINGHAUS (176) an Mäusen bestimmten, nicht mehr organwirksamen Dosis (120 mg/kg) liegt.

Ausgehend von dem für Hühnerküken extrapolierten "No-effect-level" und dem üblichen Sicherheitsfaktor von mindestens 100, würde dieses eine höchst zulässige Dioctylzinn-Aufnahme von 0,1 mg/kg pro Tag für den Menschen bedeuten.
Auch wenn man berücksichtigt, daß das Huhn nicht das am empfindlichsten reagierende Versuchstier für diese Substanz-Klasse zu sein scheint, so liegt der Wert maximaler täglicher Organozinn-Aufnahme aus Kunststoffen doch so weit unter diesem Grenzwert, daß eine gesundheitsgefährdende Wirkung der Dioctyl-Verbindungen nicht zu befürchten ist.

Während gegen die Verwendung von Dioctylzinn-Stabilisatoren, gemessen an DOTC und DOTMal, in geeigneter Reinheit und der technisch üblichen Konzentration in Nahrungsmittelverpackungen anhand der vorliegenden Ergebnisse auch unter Berücksichtigung der Wirkung der Substanzen auf die lymphatischen Organe keine Einwände bestehen, so sollte die Verwendung von Dimethylzinn-Stabilisatoren, welche seit 1974 zur Verwendung in Hart-PVC mit Nahrungsmittelkontakt zugelassen wurden (59), in Nahrungsmittelverpackungsmaterial weiterhin kritische Beobachtung zuteil werden. An der LD_{50} des Kükens gemessen hat DMTC, welches als mögliches Zerfallsprodukt des zugelassenen Dimethylzinn-Dithioglycolsäure-Isooctylester angesehen werden muß, eine ca. 30-fach höhere akute Toxizität im Vergleich zu DOTMal, eine mehr als 100-fach höhere akute Toxizität im Vergleich zu DOTMal und eine mehr als 100-fach höhere akute Toxizität verglichen mit DOTC. Weiterhin weist DMTC auch bei 14-tägiger Fütterung in einer, verglichen mit DOTMal und DOTC, 50-fach

DOTMal, nicht aber Diäthylzinn-Dichlorid, haben eine Wirkung auf die lymphatischen Organe schon in der Embryonalzeit. Vergleicht man unter dem Vorbehalt einer gleichmäßigen Verteilung der Substanzen im Hühnerei die festgestellte Embryotoxizität mit der oralen Toxizität am Küken, anhand der bestimmten LD_{50}-Werte, so zeigt sich, daß mit wachsender Länge der Alkylketten das Verhältnis von Embryotoxizität zu Kükentoxizität größer wird.
Ein Problem spezieller Art stellt sich, wenn Diorganozinn-Verbindungen durch medizinische Gebrauchsgegenstände, durch Transfusionsgeräte und Verpackungsmaterial mit Arzneien oder Blutersatzmitteln in Kontakt kommen, die oft über längere Zeit gelagert werden (32,157,161,328,446).
Wie groß das Risiko einer Gesundheitsschädigung hierdurch ist, kann anhand der eigenen Untersuchungen nicht entschieden werden.

Die Weltkunststoffproduktion nimmt seit Jahren rapide an Umfang zu. In einem Jahrzehnt (1962-1972) stieg die PVC-Produktion um das 15-fache und betrug 1972 ca. 7,5 Mio. t.
Ein "idealer" Kunststoff wäre eine hochpolymere Substanz, die alle an sie gestellten Anforderungen physikalischer und chemischer Art erfüllt, ohne des Zusatzes niedermolekularer und somit potentiell migrationsfähiger Additive zu bedürfen. Ein derartiger Kunststoff wurde bisher nicht gefunden, so daß nahezu jeder Kunststoff je nach Verwendungszweck eines oder einige der genannten Additive enthält. Die Organozinnstabilisatoren haben einen hohen merkantilen Wert, was zu einer Selbstbeschränkung ihres Einsatzes in der Kunststoffproduktion führt. Ein Einsatz in sehr hoher Konzentration ist auch unökonomisch, da sie schon in sehr geringer Konzentration einen guten Stabilisationseffekt erzielen, dessen Optimum bei einer Konzentration von etwa 0,5 Gew.-% liegt, wie FIGGE und FINDEISS (117) zeigten. Der Einsatz von mehr als 1,5 % einiger spezieller Dioctylzinn-Stabilisatoren (Verbindungen der Laurinsäure und Maleinsäure, sowie Maleinsäureester und Thioglycolsäureester) und 1,2 % einer Mischung aus Dimethylzinn-Dithioglycolsäure-Isooctylester und Monomethylzinn-Trithioglycolsäure-ester unter bestimmten Voraussetzungen (Anforderungen an Rein-

heit, Einsatz nur in Hart-PVC) wird in der Bundesrepublik Deutschland für Lebensmittelverpackungen auch nicht empfohlen (59).
Die Möglichkeit, die Effektivität der Organozinnstabilisatoren durch geeignete Zusätze zu erhöhen, wird vielfach genutzt (378,478).
Ein großer Teil der heutigen Weltkunststoffproduktion liegt in der Herstellung von "Wegwerf"-Materialien. Der Anteil der festen Abfälle als Resultat dieser "Wegwerf"-Kunststoffprodukte wird für 1980 auf ca. 5 % geschätzt. Die Beseitigung der festen Abfälle - Landauffüllung, Kompostierung, Verbrennung - stellt uns heute vor immer größere Probleme. Ihre Wirkung auf die Umwelt ist noch nicht absehbar. Auch muß immer die mögliche Konzentrierung stabilerer Inhaltsstoffe während des Abbaus der Abfälle und ihre mögliche Anreicherung in der Nahrungskette im Auge behalten werden. Die Organozinnstabilisatoren fördern eher die Produktion hochwertiger Produkte, als die von "Wegwerf"-Materialien, was aus dieser Sicht begrüßenswert erscheint. Die relative Umweltfreundlichkeit der in der Landwirtschaft angewandten Triorganozinn-Verbindungen als Pestizide wurde schon erwähnt. Der maßvolle Einsatz einiger, als verhältnismäßig untoxisch erkannter Organozinn-Verbindungen wie Dioctylzinn-Verbindungen ist somit aus heutiger Sicht nicht abzulehnen, eine eingehende Untersuchung aller zur Anwendung gelangender Substanzen dieser Art aber zu fordern.
Bei den Organozinn-Verbindungen ist im Gegensatz zu anderen Schwermetallverbindungen eine hohe biologische Aktivität, so auch eine hohe Säugertoxizität, wohl eher die Ausnahme als die Regel und zeigt oft beachtliche Variationen von Spezies zu Spezies (18,478).
Aus diesem Grunde sollte jede der zur Anwendung gelangenden Organozinn-Verbindungen als individuelle Substanz untersucht werden. Neben der "klassischen" Toxikologie muß hierbei ein besonderes Augenmerk auf mögliche Einflüsse auf das lymphatische System gerichtet werden.

Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster
Referent: Prof.Dr.F.H.Kemper; Koreferent: Prof.Dr.H.Themann

A B S T R A C T

Thomas Schürmeyer

TOXIKOLOGIE UND EMBRYOTOXIKOLOGIE EINIGER DIALKYLZINN-VERBINDUNGEN AM MODELL DES HÜHNERKÜKENS UNTER BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG DER WIRKUNG AUF DIE PRIMÄR LYMPHATISCHEN ORGANE

1.Literaturübersicht über Chemie, Anwendung und Toxikologie der Organozinn-Verbindungen. 2.Eigene Untersuchungen mit Dimethylzinn-Dichlorid (DMTC),Diäthylzinn-Dichlorid (DETC), Dibutylzinn-Dichlorid (DBTC), Dioctylzinn-Dichlorid (DOTC) und Dioctylzinn-Maleinat (DOTMal). 2.1.Die orale LD 50 am Hühnerküken beträgt für DMTC 120 mg/kg, DETC 330 mg/kg, DBTC 320 mg/kg, DOTMal 3500 mg/kg und DOTC 10000 mg/kg. Als Besonderheit findet sich eine Spättoxizität mit Lähmungserscheinungen an den hinteren Extremitäten. 2.2.Im subakuten Fütterungsversuch (14 d) wurde als wichtigstes Ergebnis eine Herabsetzung des Gewichtes von Thymus und Bursa Fabricii besonders durch DOTC und DOTMal festgestellt. 2.3.Die Prüfung des Einflusses der Testsubstanzen am Hühnerembryo ergaben keinen Anhalt für teratogene Effekte, jedoch für eine hohe Embryotoxizität, die mit einer Verminderung des Gewichtes von Thymus und Bursa Fabricii einhergeht. In Ergänzung dieses Teiles der Arbeit werden in einer ausführlichen Literaturübersicht der Hühnerembryo als Experimentalmodell und die möglichen Applikationstechniken von Substanzen ins Hühnerei besprochen. Als optimale Technik wird die Injektion ins Eiklar angegeben. 3.In der Diskussion der Ergebnisse und ihrer Bedeutung für den Menschen erscheint die Verwendung von Dioctylzinn-Stabilisatoren in Kunststoffen, die mit Lebensmitteln in Kontakt kommen vertretbar, wobei die vom Bundesgesundheitsamt herausgegebenen Empfehlungen zu beachten sind, während die Verwendung von Dimethylzinn-Stabilisatoren zu diesem Zweck abgelehnt wird.

L I T E R A T U R

1) ABDOU, A.H. — "The use of dibutyltin dilaurate for treatment of chickens experimentally infected with Davainea proglottina" C.A. 51 , 6o1o (1957)

2) ACKERMANN, W.W., TAYLOR, A. — "Application of a metabolic inhibitor to the developing chick embryo" Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 67 , 449-452 (1948)

3) ADAMS, A.E., BULL, A.L. — "The effect of antithyroid drugs on chicken embryos" Anat.Rec. 1o4 , 421-425 (1949)

4) ADAMS, A.E., BUSS, A.M. — "The effect of a single injection of an antithyroid drug on hyperplasia in the thyroid of the chick embryo" Endocrinology 5o , 234-253 (1952)

5) ADAMS, A.E. — "Effects of thyroxine on the chicken embryo" Anat.Rec. 131 , 445-449 (1958)

6) AIRS, R.S., EVANS, H.C. — "High-pressive steam turbine oils" C.A. 54, 21745 (196o)

7) ALDRIDGE, W.N. — "The biochemistry of organotin compounds: Trialkyltins and oxidative phosphorylation" Biochem. J. 69, 367-376 (1958)

8) ALDRIDGE, W.N., CREMER, J.E. — "The biochemistry of organotin compounds: Diethyltin dichlorid and triethyltin sulphate" Biochem. J. 61, 4o6-418 (1955)

9) ALEU, F.P.,KATZMAN, R., TERRY, R.D. — "Fine structure and elektrolyte analyses of cerebral edema induced by alkyl tin intoxication" J. Neuropathol. Exptl. Neurol. 22 4o3-413 (1963)

1o) ALLESTON, D.L., DAVIES, A.G. — "The preparation of some organotin compounds" J.Chem.Soc. 2o5o-2o54 (1962)

11) ANCEL, P. — "Les variations individuelles dans le expériences de tératogenèse" Rev.Sci. 83 , 99-1o6 (1945)

12) ANCEL, P. — "L'achondroplasie, sa réalisation expérimentale - sa pathogénie" Annales d'Endocrinologie 6 , 1-24 (1945)

13) ANCEL, P., LALLEMAND, S. "Sur une malformation du bec et des membres obtenue chez l'embryon de poulet à l'aide de sulfonamides" C.R.Soc.de Biol. 136 , 255-256 (1942)

14) Anon. "'Toxicon' und Schädlingsbekämpfung unter Wasser - neue Anwendung von Organozinnverbindungen" Zinn und seine Verwendung 53 , 11-15 (1961)

15) Anon. "Organotins - major prospects" Chem.Eng.News 36(3o) , 48 (1958)

16) ANTLER, M. "Organometallics in lubrication" Ind.Engng.Chem. 51 , 753-758 (1959)

17) ARBRUZOV, B.A., PUDOVIC, A.N. "Organophosphorus-tin compounds" C.A. 42 , 4522 (1948)

18) ASCHER, K.R.S., NISSIM, S. "Organotin compounds and their poten - tial use in insect control" Wld.Rev.Pest.Control 3 , 188-2o7 (1964)

19) BALABAN, M., HILL, J. "Effects of thyroxine level and tempera- ture manipulations upon the hatching of chick embryos" Develop.Psychobiol. 4(1) , 17-35 (1971)

2o) BARANOVSKAYA, N.B., ZAKHA- ROVA, M.Z., MIZIKIN, A.I., ZIL'BERMAN, E.N. "Hardening of organosilicon polymer compositions" C.A. 54 , 16oo8 (196o)

21) BARNES, J.M., MAGEE, P.N. "The bilary and hepatic lesion produced experimentally by dibutyltin salts" J.Path.Bact. 75 , 267-279 (1958)

22) BARNES, J.M., MAGOS, L. "The toxicology of organometallic compounds" Organometal.Chem.Rev. 3 , 137-15o (1968)

23) BARNES, J.M., STONER, H.B. "Toxic properties of some dialkyl and trialkyl tin salts" Brit.J.Ind.Med. 15 , 15-22 (1958)

24) BARNES, J.M., STONER, H.B. "The toxicology of tin compounds" Pharmac.Rev. 11 , 211-231 (1959)

25) BARNES, R.D., BULL, A.T., POLLER, R.C. "Studies on the persistence of the organotin fungicide Fentin acetat (Triphenyltin acetat) in the soil and on surfaces exposed to light" Pestic.Sci. 4 , 3o5-317 (1973)

26) BEAUDOIN, A.R. "Teratogenic activity of several closely related diazo dyes on the developing chick embryo" J.Embryol.Exp.Morphol. 9 , 14-21 (1961)

27) BEAUDOIN, A.R., WILSON, J.G. "Teratogenic effect of trypan blue on the developing chick" Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 97 , 85-9o (1958)

28) BECHER, H. Anat.Anz. 88 (Erg. H) , 144- (1939)

29) BECKER, W.L. "Beitrag zur Behandlung von Vergiftungen durch Organozinnverbindungen" Dissertation , Bonn (1973)

3o) BELLAIRS, R. "The structure of the yolk of the hen's egg as studied by electron mikroskopy" J.Biophys.Biochem.Cytol. 11 , 2o7-225 (1961)

31) BERG, H. "Zur Bestimmung flüchtiger organischer Anteile aus Kunststoff-Bedarfsgegenständen und zum Übergang von Kunststoff-Bestandteilen in Fette oder Fettsimulantien" Dissertation , Stuttgart (197o)

32) BERNT, D. "Prüfung der vom VEB Elektrochemisches Kombinat Bitterfeld hergestellten PVC-Folien hinsichtlich ihrer Toxizität" Plaste und Kautschuk 6 , 347-348 (1959)

33) BEVELANDER, G., NAKAHARA, H., ROLLE, G.K. "Inhibition of skeletal formation in the chick embryo following administration of tetracyclines" Nature 184 , 728-729 (1959)

34) BEYER, R.E. "The effect of thyroxin upon the general metabolism of the intact chick" Endocrinology 5o , 497-5o3 (1952)

35) BIGELOW, V., SPARBER, S.B. "The effect of mescaline administered prior to incubation or after hatching upon the behavior of young chickens" The Pharmacologist 1o , 86 (1968)

36) BLATTNER, R.J., WILLIAMSON, A.P., SIMONSEN, L. "Teratogenic changes in early chick embryos following administration of antitumor agent (Azaserine)" Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 97 , 56o-564 (1958)

37) BLATTNER, R.J., WILLIAMSON, A.P., SIMONSON, L., ROBERTSON, G.G. "Teratogenesis with cancer chemotherapeutic agents" J.Pediat. 56 , 285-293 (196o)

38) BLITZER, S.M., ZIETZ, J.R. "Alkyltin chlorides" C.A. 53 , 4135 (1959)

39) BOKRANZ, A., PLUM, H. "Technische Herstellung und Verwendung von Organozinnverbindungen" Fortschr.Chem.Forsch. 16 , 365-4o2 (1971)

4o) BOOKER, E.E., STURKIE, P.D. "The effect of thyroxine and iodinated casein on the development of chick thyroid" Poultry Science 28 , 147-148 (1949)

41) BORNMANN, G., LOESER, A., MICULICZ, K., RITTER, K. "Über das Verhalten des Organismus bei Einwirkung verschiedener Weichmacher" Z.Lebensmittel-Untersuchung u. -Forschung 1o3 , 413-424 (1956)

42) BOWER, R.K., HABERMAN, S., MINTON, P.D. "Teratogenic effects in the chick embryo caused by esters of phthalic acid" J.Pharmacol.Exp.Therap. 171 , 314-324 (197o)

43) BOYLEN, J.B., HORN, H.H. JOHNSON, W.J. "Teratogenic effects of thaliodomide and related substances" Lancet 1 , 552-553 (1963)

44) BOYLEN, J.B., HORN, H.H., JOHNSON, W.J. "Teratogenic effects of thaliodomide and its metabolits on the developing chick embryo" Canadian J. of Biochemistry 42, 35-42 (1964)

45) BRENEMAN, W.R. "Effects of endocrine extracts on the early development of the chick" Science 79 , 434-435 (1934)

46) BRIDGES, J.W., DAVIES, D.S., WILLIAMS, R.T. "The fate of ethyltin and diethyltin derivatives in the rat" Biochem.J. 1o5 , 1261-1267 (1967)

47) BRODY, T.M., MOORE , K.E. "Biochemical aspects of triethyltin toxicity" Fed.Proc. 21 , 11o3-11o6 (1962)

48) BRUCK, C.G. vom, FIGGE, K., PIATER, H., WOLF , N. "Migration von Hilfsstoffen der Kunststoffverarbeitung aus Folien in flüssige und feste Fette bzw. Simulantien" Deutsche Lebensmittel Rundschau 67 , 444-45o (1971)

49) BRÜGGEMANN, J., KLIMMER, O.R. "Ernährungsphysiologische, analytische und toxicologische Untersuchungen mit dem Fungizid Triphenylzinnacetat" Zentralbl.Vet.Med. A 11 , 1-3 (1964)

5o) BRÜGGEMANN, J., KLIMMER, O.R., NIESAR, K.N. "Die bei Pflanze und Tier auftretenden Triphenylzinnacetat-Rückstände und ihre Bedeutung unter hygienisch-toxicologischen Aspekten" Zentralbl.Vet.Med. A 11 , 4o-48 (1964)

51) BÜCHNER, F. "Von den Ursachen der Mißbildungen und Mißbildungskrankheiten" Münch.Med.Wschr. 97 , 1673-1677 (1955)

52) BÜCHNER, F. "Differenzierungsstörungen im mittleren und hinteren Körperdrittel des Hühnchens nach experimentellem Sauerstoffmangel in der Frühentwicklung" Beitr.zur path. Anat.u. zur allg.Path. 115 , 617-643 (1955)

53) BÜCHNER, F. "Die Bedeutung peristatischer Faktoren für die Entstehung der Mißbildungen und Mißbildungskrankheiten" Verh.d.deutsch.Ges.f.inn.Med. 64 , 13-33 (1958)

54) BÜCHNER, F., MUSHETT, C.W., RÜBSAAMEN, H. "Elektive Entwicklungsstörungen des Zentralnervensystems am Hühnchenkeim nach kurzfristigem Sauerstoffmangel" Naturwissenschaften 4o , 628 (1953)

55) BÜCHNER, F., RÜBSAAMEN, H., NAUJOKS, H. "Mißbildungen am Hühnchenkeim nach kurzfristigem Sauerstoffmangel" Naturwissenschaften 4o , 276 (1953)

56) BÜCHNER, F., RÜBSAAMEN, H., ROTHWEILER, G. "Reproduktion fundamentaler menschlicher Mißbildungen am Hühnchenkeim durch Sauerstoffmangel" Naturwissenschaften 38 , 142-143 (1951)

57) BÜCHNER, F., RÜBSAAMEN, H., SCHELLONG, G. "Angeborene Herzfehler beim Hühnchen nach kurzfristigem Sauerstoffmangel" Naturwissenschaften 4o , 628 (1953)

58) BULLARD, R.H., HOLDEN, F.R. "Action of hydrogenchlorid on stannanes of the type R_2SnR_2" J.Am.Chem.Soc. 53 , 315o-3153 (1931)

59) BUNDESGESUNDHEITSAMT Bundesgesundheitsblatt,
33. Mitteilung , 9 , 322-323 (1966)
48. " , 11 , 271-272 (1968)
1o4. " , 17 , 253-254 (1974)
1o8. " , 18 , 25-26 (1975)

6o) BÜRGER, K — "Zur Analytik von Organozinnverbindungen" Z. Lebensmittel-Untersuchung u. -Forsch. 114, 1-1o (1961)

61) BÜRGER, K. — "Bestimmung von Mikrogramm-Mengen Zinn in tierischem und pflanzlichem Material" Z. Lebensmittel-Untersuchung u. -Forsch. 114, 1o-13 (1961)

62) BÜRGER, K — "Dünnschichtchromatographische Arbeitsweise zum Nachweis, zur Kennzeichnung und zur Trennung von Spuren mono-, di-, tri- und nullvalenter Organozinnverbindungen" Z. Anal. Chem. 192, 28o-286 (1963)

63) BÜRGER, K. — "Methoden der Analytik von Organozinnverbindungen und ihre Grenzen" Zinn u. seine Verarbeitung 61, 6 (1964)

64) BYERLY, T.C. — "Effect of different incubation temperatures on mortality of chick embryos" Poultry Science 17, 2oo-2o5 (1938)

65) CALDWELL, J.R. — "Organometallic compounds as catalysts in the preparation of polyesters" C.A. 5o, 22o5 (1956)

66) CALLEY, D.J., GUESS, W.L., AUTIAN, J. — "Hepatotoxity of a series of organotin ester" J. Pharm. Sci. 56, 24o-243 (1967)

67) CALLEY, D.J., GUESS, W.L., AUTIAN, J. — "Ultrastructural hepatotoxity induced by an organotin ester" J. Pharm. Sci. 56, 1267-1272 (1967)

68) CARRICK, W.L., KLUIBER, R.W. — "Hydro carbon-soluble catalyst system for polymerization of ethylene" C.A. 57, 7464 (1962)

69) CASIDA, J.E., KIMMEL, E.C., HOLM, B., WIDMARK, G. — "Oxidative dealkylation of tetra-, tri- and dialkyltins and tetra- and trialkyl leads by liver microsomes" Acta Chem. Scand. 25, 1497-1499 (1971)

7o) CASKEY, C.D., GALLUP, W.D., NORRIS, L.C. — "The need for manganese in the bone development of the chick" J. Nutr. 17, 4o7-417 (1939)

71) CASTEL, P., GRAS, G. — "Organic compounds of tin" C.A. 52 , 1958 (1958)

72) CASTEL, P., HARANT, H., GRAS, G. — "Les possibilités anthelminthiques des composés organiques de l'étain" Thérapie 13, 865-872 (1958)

73) CATIZONE, O., GRAY, P. — "Experiments on chemical interference with the early morphogenesis of the chick"
J. Exp. Zool. 87, 71-82 (1941)

74) CHURCH, J.M., RAMSDEN, H.E., HIRSCHLAND, H., BUCHANAN, H.W. — "Organotin phosphate esters"
C.A. 48, 142o (1954)

75) CHURCHILL, J.W. — "Polymerized dichlorostyrenes containing organotin anticrazing agents"
C.A. 47, 1o9o4 (1953)

76) CLEGG, D.J. — "The hen egg in toxicity and teratogenicity studies"
Food Cosmet. Toxicol. 2, 717-727 (1964)

77) COATES, M.E. — "Advances in nutritional knowledge through studies with birds"
Proc. Nutr. Soc. 21, 6o-65 (1962)

78) COLLIER, W.A. — "Zur experimentellen Therapie der Tumoren - Die Wirksamkeit einiger metallorganischer Blei- und Zinnverbindungen"
Z. Hyg. Infekt. Kr. 11o, 169-174 (1929)

79) CORDARELLI, N.F. — "Langsam lösliche, Organozinn enthaltende Pestizide"
Zinn u. seine Verwendung 93 , 19-22 (1972)

8o) CRAMER, C.R. — "Industrielle Herstellung von Organozinnverbindungen"
Zinn u. seine Verwendung 46 , 7-1o (1959)

81) CRAVENS, W.W., MCGIBBON, W.H., SEBESTA, E.E. — "Effect of biotin deficiency on embryonic development in the domestic fowl"
Anat.Rec. 9o , 55-64 (1944)

82) CRAVENS, W.W., SNELL, E.E. — "Effects of desoxypyridoxine and vitamin B_6 on development of the chick embryo"
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 71 , 73-76 (1949)

83) CREMER, J.E. — "The metabolism in vitro of tissue slices from rats given triethyltin compounds"
Biochem.J. 67 , 87-96 (1957)

84) CREMER, J.E. "The biochemistry of organotin compounds - the conversion of tetraethyltin into triethyltin in mammals" Biochem.J. 68 , 685-692 (1958)

85) CREMER, J.E. "A comparison of the action of triethyltin with other drugs on creatine phosphate levels in rat brain and diaphragma preparation" Biochem.Pharmacol. 6 , 153-16o (1961)

86) CREMER, J.E. "The action of triethyltin, triethyllead, ethylmercury and other inhibitors on the metabolism of brain and kidney slices in vitro using substances labelled with 14-C" J.Neurochem. 9 , 289-298 (1962)

87) CREMER, J.E. "Studies on brain-cortex slices I" Biochem.J. 1o4 , 212-222 (1967)

88) CREMER, J.E. "Studies on brain-cortex slices II" Biochem.J. 1o4 , 223-228 (1967)

89) DAGG, C.P., KARNOFSKY, D.A. "Teratogenic effects of azaserine on the chick embryo" J.Exp.Zool. 13o , 555-568 (1955)

9o) DAGG, C.P., KARNOFSKY, D.A. "Protection against teratogenic action of azaserine and DON" Fed.Proc. 15 , 238-239 (1956)

91) DAGG, C.P., KARNOFSKY, D.A. "Some effects of 6-aminonicotinamide in chicken embryos" Fed.Proc. 17 , 361 (1958)

92) DAGG, C.P., KARNOFSKY, D.A., LACON, C., RODDY, J. "Comparative effects of 6-diazo-5-oxo-L-norleucine and o-diazoacetyl-L-serine on the chick embryo" Amer.Ass.Cancer Res. 2 , 1o1 (1956)

93) DAGG, C.P., KARNOFSKY, D.A., STOCK, C.C., LACON, C.R., RODDY, J. "Effects of certain triazenes on chick embryos and on tumors explanted to the chorioallantois" Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 9o , 489-49o (1955)

94) DAUM, R.L. "Agricultural and biocidal applications of organometallics" Ann.NY Acad.Sci. 125 , 229-241 (1965)

95) DEBOCK, C.A., PETERS, A. "Effects of thaliodomide on the development of the chick embryo" Nature 199 , 12o4-12o6 (1963)

96) DILLARD, C.R., MCNEIL, E.H., SIMMONS, D.E., VELDELL, J.B. "Synthesis and properties of some tinalkyls" J.Am.Chem.Soc. 8o , 36o7-36o9 (1958)

97) DIMITRIEVA, H.W. "Thymus and viability I" Bull.Biol.Méd.Exp.de l'URSS 6 , 35-36 (1939)

98) DOMM, L.V. "Intersexuality in adult brown Leghorn male as a result of estrogenic treatment during early embryonic life" Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 42 , 31o-312 (1939)

99) DOMM, L.V., DENNIS, E.A. "Effect of pituary hebin upon reproductive system of the chick embryo" Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 36 , 766-769 (1937)

1oo) DRACHMAN, D.B. "Atrophy of skeletal muscle in chick embryos treated with Botulinum toxin" Science 145 , 719-721 (1964)

1o1) DRACHMAN, D.B. "The developing motor end-plate : curare tolerance in the chick embryo" J.Physiology 18o , 735-74o (1965)

1o2) DRACHMAN, D.B., COMLOMBRE, A. "Methode for continous infusion of fluids into the chorioallantoic circulation of the chick embryo" Science 138 , 144-145 (1962)

1o3) DUB, M. (Edit.) "Organometallic compounds of germanium, tin and lead" Bd II Springer-Verlag , Berlin (1967)

1o4) DURAISWAMI, P.K. "Insulin-induced skeletal abnormalities in developing chickens" Brit.Med.J. 384-39o (195o)

1o5) EBERLY, K.C. "ALkyltin carboxylates" C.A. 46 , 7583 (1952)

1o6) EBERLY, K.C., SMITH, G.E.P., ALBERT, H.E. "Butyltin chlorides" C.A. 46 , 1581 (1952)

1o7) EIDUSON, S. "5-hydroxytryptamine in the developing chick brain : its normal and altered development and possible control by end-product repression" J.Neurochem. 13 , 923-932 (1966)

1o8) ELSEA, J.R., PAYNTER, O.E. "Toxicological studies on bis(tri-n-butyltin)oxide" Am.Med.Ass.Arch.Industr.Health 18 , 214-217 (1958)

1o9) EL-IBIARY, H.M., SHAFFNER, C.S., GODFREY, E.F. "Pulmonary ventilation in a population of hatching chick embryos" Brit. Poultry Sci. 7, 165-176 (1966)

11o) ENGEL, R.W., PHILLIPS, P.H., HALPIN, J.G. "The effect of a riboflavin deficiency in the hen upon embryonic development of the chick" Poultry Sci. 19, 135-142 (194o)

111) EVANS, C.F. "Entwicklungen in der Organozinn-industrie" Zinn und seine Verwendung 1oo, 3-5 (1974)

112) FAHLSTROM, G.B. "Organo zinn-Fungizide in amerikanischen Holzschutzprüfungen" Zinn und seine Verwendung 46, 4-6 (1959)

113) FARBWERKE HOECHST AG "Stabilisation of halogen-containing polymers" C.A. 54, 26oo7 (196o)

114) FAULKNER, C.J. "Organotin compounds" C.A. 53, 7o14 (1959)

115) FELDMAN, M., WADDINGTON, C.H. "The uptake of Methionine $-S^{35}$ by the chick embryo and its inhibition by Ethionine" J. Embryol. Exp. Morphol. 3, 44-58 (1955)

116) FIGGE, K., EDER, S.R., PIATER, H. "Migration von Hilfsstoffen der Kunststoffverarbeitung aus Folien in flüssige und feste Fette bzw. Stimulantien XI" Deutsche Lebensmittelrundschau 68, 359-367 (1972)

117) FIGGE, K., FINDEIß, W. "Untersuchungen zum Mechanismus der PVC-Stabilisierung mit Organozinn-Verbindungen" Die Angewandte Makromolekulare Chemie 47, 141-179 (1975)

118) FIGGE, K., PIATER, H. "Migration von Hilfsstoffen der Kunststoffverarbeitung aus Folien in flüssige und feste Fette bzw. Stimulantien V " Deutsche Lebensmittel Rundschau 67, 11o-119 (1971)

119) FIGGE, K., PIATER, H. "Migration von Hilfsstoffen der Kunststoffverarbeitung aus Folien in flüssige und feste Fette bzw. Stimulantien VI" Deutsche Lebensmittel Rundschau 67, 154-161 (1971)

12o) FIGGE, K., PIATER, H. "Migration von Hilfsstoffen der Kunststoffverarbeitung aus Folien in flüssige und feste Fette bzw. Stimulantien VII" Deutsche Lebensmittel Rundschau 67, 235-242 (1971)

121) FIGGE, K., PIATER, H. "Migration von Hilfsstoffen der Kunststoffverarbeitung aus Folien in flüssige und feste Fette bzw. Stimulantien X" Deutsche Lebensmittel Rundschau 68, 313-319 (1972)

122) FIGGE, K., SCHOENE, J. "Flüchtigkeit einiger Additive aus Plastfolien bei thermischer Belastung im Walztest" Plastverarbeiter 21, 245-248 (197o)

123) FISH, R.H., KIMMEL, E.C., CASIDA, J.E. "Bioorganotin chemistry: reactions of tributyltin derivatives with a cytochrome P-45o dependant monooxygenase enzyme system" J. Organometallic Chem. 118, 41-54 (1975)

124) FRANKE, K.W., MOXON, A.L., POLEY, W.E., TULLY, W.C. "Monstrosities produced by the injection of selenium salts into hen's eggs" Anat. Rec. 65, 15 (1936)

125) FRANCISCIS, P. de, BOCALATTE, F. "Lead acetate and development of chick embryo" Nature 193, 989-99o (1962)

126) FRANCISCIS, P. de, LANDAUER, W. "Combined effects of cortisone and insulin on developing chicken embryos" Nature 184, 1o1-1o3 (1959)

127) FRANZEN, V., NEUBERT, G. "Probleme der Stabilisierung von Hart-PVC für Verpackungsmittel" Chem. Ztg. 89, 8o1-8o7 (1965)

128) FRANZKE, C., UHDE, W.J., WOGGON, H. "Über die Migration von Antioxydanzien und Stabilisatoren aus Plastverpackungen in Speiseöl" Plaste und Kautschuk 17, 327-33o (197o)

129) FREEMAN, B.M. "The endocrine status of the bursa of Fabricius and the thymus gland" In :"Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl" Edit. : BELL, D.J. and FREEMAN, B.M. Academic Press, London, p.575-587, (1971)

13o) FREEMAN, B.M., VINCE, M.A. "Development of the Avian Embryo" Chapman & Hall, London (1974)

131) FREERICKS, R. "Über die Vitalfärbbarkeit von Hühnerembryonen" Biol.Zentralbl. 73, 155-169 (1954)

132) FRITSCH, P., SAINT-BLAQUAT, G. de, DERACHE, R. "Effect of various dietary components on absorption and tissue distribution of orally administered inorganic tin in rats" Food Cosmet.Toxicol. 15, 147-149 (1977)

133) GAARENSTROM, J.H. — "Influence of oestrone (menformon) on the sex of chicken embryos" Acta brevia neerl.Physiol. 7, 156-159 (1937)

134) GAARENSTROM, J.H. — "Action of sex hormones on the development of the Müllerian duct of the chick embryo" J.Exp.Zool. 82, 31-46 (1939)

135) GAARENSTROM, J.H. — "Sexual development of fowls derived from eggs treated with oestradiol benzoate" J.Endocrinol. 2, 47-54 (194o)

136) GABRIEL, M.L. — "The effect of local applications of colchine on Leghorn and polydactylous chick embryos" J.Exp.Zool. 1o1, 339-35o (1946)

137) GABRIEL, M.L. — "Production of strophosomy in the chick embryo by local applications of colchine" J.Exp.Zool. 1o1, 351-354 (1946)

138) GALLERA, J. — "Influence de l'atmosphère artificiellement modifiée sur le développement embryonnaire du poulet" Acta Anat. 11, 549-585 (1951)

139) GAUNT, I.F., COLLEY, J., GRASSO, P., CREASEY, M., GANGOLLI, S.D. — "Acute and short-term toxicity studies on di-n-butyltin dichloride in rats" Food Cosmet.Toxicol. 6, 599-6o8 (1968)

14o) GERLACH, L., KOCH, H. — "Über die Produktion von Zwergbildungen im Hühnerei auf experimentellem Wege" Biol.Zentralbl. 2, 681-686 (1883)

141) GERLINGER, P., RUCH, J.V., CLAVERT, J. — "Action du cyclophosphamide sur la formation de l'embryon" C.R.Séances Soc.Biol. 255, 173-176 (1965)

142) GINGOLD, K., ROCHOW, E.G., SEYFERTH, D., SMITH, A.C., WEST, R. — "Ionisation of organometallic halides" J.Am.Chem.Soc. 74, 63o6 (1952)

143) GLICK, B., SADLER, C.K. — "The elimination of the bursa of Fabricius and reduction of antibody production in birds from eggs dipped in hormone solutions" Poultry Science 4o, 185-189 (1961)

144) GLOSKEY, C.R. — "Separation of mixed butyltin compounds" C.A. 5o, 87o9 (1956)

145) GODFREY, A.B. "The effect of egg weight, quantity of total albumen per egg and quantity of thick albumen per egg on hatchability" Poultry Science 15, 294-297 (1936)

146) GOERTTLER, K. "Der teratologische Grundversuch am bebrüteten Hühnchenkeim, seine Möglichkeiten und Grenzen" Klinische Wochenschrift 4o, 8o9-811 (1962)

147) GORDON, M.W., ROEDER, M. "Adaptive enzym formation in the chick embryo" J.Biol.Chem. 2oo, 859-866 (1953)

148) GRABOWSKI, C.T. "Teratogenic effects of calcium salts on chick embryos" J.Embryol.Exp.Morph. 15, 113-118 (1966)

149) GRAS, G.C. "L'étain - étude expérimentale du pouvoir anthelminthique de quelques composés mineraux et organiques" Dissertation, Montpellier (1956)

15o) GRAU, C.R., FRITZ, H.I., WALKER, N.E., KLEIN, N.W. "Nutrition studies with chick embryos deprived of yolk" J. Exp. Zool. 15o, 185-195 (1962)

151) GRAY, P. "Experiments with direct currents on chick embryos" Arch. Entw.-mech. 139, 732-779 (1939)

152) GRAY, P., SCULLY, J.M. "The suppressive effect of cobalt on the amnion in early chick development" Anat. Rec. 79, 26 (1941)

153) GRAY, P., WORTHING, H. "Experiments on chemical interference with the early morphogenesis of the chick" J. Exp. Zool. 86, 423-437 (1941)

154) GROSSOWICZ, N. "Influence of thiourea on development of the chick embryo" Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 63, 151-152 (1946)

155) GRÜN, L., FRICKER, H.H. "Organozinnverbindungen als Wirkstoffe in Desinfektionsmitteln" Zinn und seine Verwendung 6o, 1-3 (1964)

156) GUESS, W.L., O'LEARY, R.K., CALLEY, D., AUTIAN, J. "Parenteral toxicity of a series of commercially available dioctyl- and dibutyl tin stabilizers used in PVC formulations" Soc. Plastic. Engrs. XXV, 4, 1-7 (1966)

157) GUESS, W.L., HABERMAN, S., ROWAN, D.F., BOWER, R.K., AUTIAN, J. "Characterization of subtile toxicity of certain plastic components used in manufacture of the polyvinyls" Am. J. Hosp.Pharm. 24, 494-5o1 (1967)

158) GUTHRIE, J.E., POWICK, W.C., BANDEL, D. "Critical tests with tetraalkyl tin compounds for the removal of Raillietina cesticillus from experimentally infected chickens" C.A. 35, 2614 (1941)

159) GUTHRIE, J.E., HARWOOD, P.D. "Limited tests of mixtures of Sn oleate with NH_4 compounds for the removal of experimental tapeworm infection of chickens" C.A. 39, 351 (1945)

16o) GUTHRIE, J.E., HARWOOD, P.D. "Use of tin preparations for the treatment of chickens experimentally infected with tapeworms" Am. J. Vet, Research 2, 1o8-116 (1941)

161) HABERMAN, S., GUESS, W.L., ROWAN, D.F., BOWMAN, R.D., BOWER, R.K. "Effects of plastics and their additives on human serum proteins, antibodies and developing chick embryos" Soc.Plast.Eng.J. 24, 28-45 (1968)

162) HAMBURGER, V., HAMILTON, H.L. "A series of normal stages in the development of the chick embryo" J.Morphol. 88, 49-67 (1951)

163) HAMMETT, F.S., WALLACE, V.L. "The influence of lead on the development of the chick embryo" J.Exp.Med. 48, 659-665 (1928)

164) HANAN, E.B. "Experimental hypoglycemia and hyperglycemia in the chick embryo" Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 22, 5o1-5o5 (1925)

165) HANAN, E.B. "The absorption of certain substances from the airsac of the incubating hen's egg" Anat.Rec. 29, 359-368 (1925)

166) HANAN, E.B. "Absorption of vital dyes by the fetal membranes of the chick" Am.J.Anat. 38, 423-45o (1927)

167) HANAN, E.B. "Absorption of methylenblue from the airchamber of the incubating hen's egg" Anat.Rec. 35, 38-46 (1927)

168) HANAN, E.B. "The effect of certain endocrine substances upon the prenatal development of the chick embryo" Anat.Rec. 38, 14-22 (1928)

169) HARANT, H., CASTEL, P., GRAS, G. — "Elimination d'Hymenolepis fraterna de la souris et du rat par le dilaurate et le dichlorure d'étain di-n-octyl" Bull.Soc.Path.Exot. 5o(3), 427-433 (1957)

17o) HÄRTEL, K. — "Anwendungsmöglichkeiten organischer Sn-verbindungen in der Landwirtschaft" Angew.Chem. 7o, 135-136 (1958)

171) HÄRTEL, K. — "Der gegenwärtige Stand der Anwendung von Triphenylzinnverbindungen in der Landwirtschaft" Zinn und seine Verwendung 43, 8 (1958)

172) HÄRTEL, K. — "Organische Zinnverbindungen in der Landwirtschaft" Zinn und seine Verwendung 61, 8-13 (1964)

173) HAWARD, R.N. — "Additives in plastics" Chem. and Ind. 1442-1455 (1964)

174) HEDGES, E.S. — "Organozinnverbindungen in der Industrie" Angew.Chem. 7o, 135 (1958)

175) HEIDE, R.F. van der — "The safety for health of plastics food packaging materials" Dissertation, Utrecht (1964)

176) HENNINGHAUSEN, G., LANGE, P. — "Selective toxic effects of di-n-octyltin dichloride on thymus in mice" 2oth Congr.Europ.Soc.Tox. , Berlin, 25.o6.78 (1978)

177) HESS, M.W. — "Experimental thymectomy -possibilities and limitations" In :"Experimentelle Medizin, Pathologie und Klinik" Bd. 25 Springer-Verlag, Berlin (1968)

178) HEYMONS, A., CROON, H. — "Insekticides and fungicides" C.A. 54, 12472 (196o)

179) HOFFMANN, D.J., RAMM, G.M. — "Effects of hyperoxia on chick embryos injected with trypan blue" Teratology 5, 315-318 (1972)

18o) HOFFMANN, D.J. — "Physiological effects of hypoxia and Trypan blue in 17-day chick embryos" Teratology 12, 57-6o (1975)

181) HOMBROWSKI, S., PIEKACZ, H., MAZUR, H. — "Subakute Toxizität von Ätherextrakten aus PVC" Ernährungsforschung 11, 398-4o2 (1966)

182) HORACEK, V., DEMCIK, K. "Group-poisoning at spraying of field-cultures by Brestan-6o, Triphenyltin-acetate" Pracovni letarstvi 22, 61-66 (197o)

183) HORN, C.F., VINEVARD, H. "Polyamid stabilisation" C.A. 57, 11391 (1962)

184) HOSKINSON, R.M., RUSSEL, I.M. "51 studies on textile insectproofing" J.Text.Inst. 65, 455-463 (1974)

185) HOUSKA, M. "Extrahierbarkeit der Organozinnstabilisatoren aus Hart-Polyvinyl-Folien" Z.Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung 114, 373-375 (1961)

186) HUECK, H.J., LUIJTEN, J.G.A. "Organotin compounds as textile preservatives" J.Soc.Dyers Col. 74, 476-48o (1958)

187) HUGHES, J.A., ROSENTHAL, E., SPARBER, S.B. "Time dependent effects produced in chicks after prenatal injection of methylmercury" Pharmacol.Biochem.Behav. 4(5), 5o7-513 (1976)

188) HUGHES, W.H., LEE, W.R., FLOOD, D.J. "A comparative study of the actions of six tetracyclines on the development of the chick embryo" Brit.J.Pharmacol. 25, 317-323 (1965)

189) HUNT, E.L., WOLKEN, J.J. "The distribution of phosphorus 32 in early chick embryos" J.Exp.Zool. 1o9, 1o9-118 (1948)

19o) HURD, M.C. "Observations on the storage of trypan blue in the embryo chick" Amer.J.Anat. 42, 155-179 (1928)

191) HUSTON, T.M., PALMER, J.R., CAMERON, J.L. "The effect of washing in the hatchability of hen eggs" Poultry Sci. 36, 557-562 (1957)

192) HYMAN, L.H. "The metabolic gradients of vertebrate embryos, III The chick" Biol. Bull. 52, 1-32 (1927)

193) INGHAM, R.K., ROSENBERG, S.D. GILMAN, H. "Organotin compounds" Chem. Rev. 6o, 459-539 (196o)

194) INSKO, W.M., MARTIN, J.H. "Effect of frequent turning on hatchability and distribution of embryo mortality" Poultry Sci. 12, 282-286 (1933)

195) JACOBI, E., LUST, S., ZIMA, O., SCHOOR, A. van "Nematocides" C.A. 54, 25546 (196o)

196) JAJARAMAN, J., RAMASARMA, T. "Coenzym Q & embryonic development" Indian J. Exp. Biol. 1, 1-5 (1963)

197) JOHNSON, E.W., CHURCH, J.M. "Organotin compounds" C.A. 47, 1728 (1953)

198) JOHNSON, E.W., CHURCH, J.M. "Continous reforming of dialkyltin dihalides" C.A. 49, 2483 (1955)

199) JOHNSON, O.H., FRITZ, H.E. "Synthesis of dichlorotetrabutyldistannanes" J. Org.Chem. 19, 74-76 (1954)

2oo) JOHNSON, O.H., FRITZ, H.E., HALVORSON, D.O., EVANS, R.L. "The preparation and reactions of dihalotetraalkylditin compounds" J. A.Chem. So. 77, 5857-5858 (1955)

2o1) JOHNSON, W.A. "Neue Anwendungsgebiete für Organozinnverbindungen" Zinn u. seine Verwendung 54, 5-9 (1962)

2o2) JOLYET, F., CAHOURS, A. "Recherches sur l'action physiologiques des stannéthyles et des stanméthyles" C.R. Acad. Sci. 68, 1276-128o (1869)

2o3) JONSON, A. "Studien über die Thymusinvolution - die akzidentelle Involution bei Hunger" Arch.Mikrosk.Anat.Entwicklungsmech. 73, 39o-443 (19o9)

2o4) KALI-CHEMIE AG "Hydrocarbon-tin compounds" C.A. 53, 9o61 (1959)

2o5) KALTOFEN, R.S. "Der Einfluß des Befruchtungsprozentsatzes und der Häufigkeit des Wendens auf die embryonale Sterblichkeit während der künstlichen Brut" Arch. Geflügelkunde 22, 289-327 (1958)

2o6) KAPLAN, S., GRABOWSKI, C.T. "Analysis of trypan blue - induced rumplessness in chick embryos" J. Exp. Zool. 165, 325-336 (1967)

2o7) KAPLAN, S., JOHNSON, E.M. "Oxygen consumption in normal and trypan blue - treated chick embryos" Teratology 1, 369-374 (1968)

2o8) KAPLAN, S., JOHNSON, E.M. "Teratogenic effects of direct injection of aqueous and protein-bound trypan blue into the bloodstream of 3-day chick embryos" Teratology 3, 269-272 (197o)

2o9) KARNOFSKY, D.A. "The use of the developing chick embryo in pharmacologic research" Stanford Med. Bull. 13, 247-259 (1955)

21o) KARNOFSKY, D.A. "Influence of antimetabolites inhibiting nucleic acid metabolism on embryonic development" Trans.Ass.Amer.Physicans 73, 334-347 (196o)

211) KARNOFSKY, D.A., DAGG, C.P., LACON, C.R. "Effects of ethionine and related compounds on the developing chick embryo" Fed.Proc. 14, 439 (1955)

212) KARNOFSKY, D.A., LACON, C.R. "Effects of physiological purines on the develpment of the chick embryo" Biochem.Pharmacol. 7, 154-158 (1961)

213) KARNOFSKY, D.A., LACON, C.R. "Protection against deoxyguanosine toxicity in the chick embryo with deoxycytidine" Fed.Proc. 21, 379 (1962)

214) KARNOFSKY, D.A., LACON, C.R. "Effects of drugs on the skeletal development of the chick embryo" Clin.Orthopaedics and related Research 33, 59-7o (1964)

215) KARNOFSKY, D.A., MURPHY, M.L., LACON, C.R. "Comparative toxicologic and teratologic effects of 5-fluoro-substituted pyrimidines in the chick embryo and pregnant rat" Proc.Amer.Ass.Cancer Res. 2, 312-313 (1958)

216) KARNOFSKY, D.A., PATTERSON, P.A., RIDGEWAY, L.P. "Effect of folic acid, "4-amino"-folic acids and related substances on the growth of the chick embryo" Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 71, 447-452 (1949)

217) KARNOFSKY, D.A., RIDGEWAY, L.P. "Production of injury to the central nervous system of the chick embryo by lead salts" J.Pharmacol.Exp.Therap. 1o4, 176-186 (1952)

218) KARNOFSKY, D.A., RIDGEWAY, L.P., PATTERSON, P.A. "Tumor transplantation to the chick embryo" Ann.NY.Acad.Sci. 55, 313-329 (1952)

219) KARNOFSKY, D.A., STOCK, C.C., RIDGEWAY, L.P., PATTERSON, P.A. "The toxicity of vitamin B_6, 4-deoxypyridoxine and 4-methoxymethylpyridoxine, alone and in combination to the chick embryo" J.Biol.Chem. 182, 471-478 (195o)

22o) KARNOFSKY, D.A., RIDGEWAY, L.P., PATTERSON, P.A. "Production of achondroplasia in the chick embryo with thallium" Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 73, 255-259 (195o)

221) KARNOFSKY, D.A., RIDGEWAY, L.P., PATTERSON, P.A. — "Growth-inhibiting effect of cortisone acetate on the chick embryo" Endocrinology 48, 596-616 (1951)

222) KARNOFSKY, D.A., ROSS, C., LEAVITT, C.-G.W. — "Effects of quaternary ammonium and cholinergic drugs on skeletal development of the chick embryo" Fed.Proc. 13, 373-374 (1954)

223) KATZMAN, R., ALEU, F., WILSON, C. — "Further observations on triethyltin edema" Arch.Neurol. 9, 178-187 (1963)

224) KEMPER, F. — "Thaliodomid und die Entwicklung von Hühnerembryonen" Arzneimittel-Forschung 12, 64o-641 (1962)

225) KEMPER, F. — "Hühnerei-Embryopathien" Arzneimittel-Forschung 13, 191-194 (1963)

226) KEMPER, F. — "Thaliodomid-Studien" Naunyn-Schmiedeberg's Archiv exp. Path. Pharmakol. 246, 55-56 (1963)

227) KENYON, A.S. — "Photodegeneration of polyvinyl chloride" C.A. 48, 7338 (1954)

228) KERK, G.J.M. van der — "Derzeitiger Stand der Anwendungen von Organozinnverbindungen" Chem.Zeitung 99, 26-32 (1975)

229) KERK, G.J.M. van der, LUIJTEN, J.G.A. — "Investigations on organo-tin compounds I" J.Appl.Chem. 4, 3o1-3o7 (1954)

23o) KERK, G.J.M. van der, LUIJTEN, J.G.A. — "Investigations on organo-tin compounds -. II " J.Appl.Chem. 4, 3o7-313 (1954)

231) KERK, G.J.M. van der, LUIJTEN, J.G.A. — "Investigations on organo-tin compounds - III " J.Appl.Chem. 4, 314-319 (1954)

232) KERK, G.J.M. van der, LUIJTEN, J.G.A. — "Investigations on organo-tin compounds - IV " J.Appl.Chem. 6, 49-56 (1956)

233) KERK, G.J.M. van der, LUIJTEN, J.G.A. — "Investigations on organo-tin compounds - V " J.Appl.Chem. 6, 56-6o (1956)

234) KERK, G.J.M. van der, LUIJTEN, J.G.A. — "Investigations on organo-tin compounds - IX " J.Appl.Chem. 7, 369-374 (1957)

235) KERK, G.J.M. van der, LUIJTEN, J.G.A. — "Zur Chemie und zu den Anwendungsmöglichkeiten von Organozinn-Verbindungen" Arzneimittel-Forschung 19, 932-934 (1969)

236) KERK, G.J.M. van der, LUIJTEN, J.G.A., NOLTES, J.G. — "Neue Ergebnisse der Organozinn-Forschung" Angew.Chem. 7o, 298-3o6 (1958)

237) KERR, K.B. — "Butynorate, an effective and safe substance for the removal of Raillietina cestillus from chickens" Poultry Science 31, 328-336 (1952)

238) KERR, K.B. — "Butynorate, an effective and safe substance for the removal of Raillietina cestillus from chickens" C.A. 46, 11557 (1952)

239) KERR, K.W., WALDE, A.W. — "Tetravalent tin compositions for veterinary use" C.A. 49, 7816 (1955)

24o) KERR, K.W., WALDE, A.W. — "The anthelmintic activity of tetravalent tin compounds" Exp.Parasitology 5, 56o-57o (1956)

241) KERR, K.W., WALDE, A.W. — "Anthelmintic activity of quadrivalent tin compounds" C.A. 51, 7566 (1957)

242) KINGSBURY, J.W., EMERY, S.L., ADAMS, A.E. — "Effects of thiourea on the adrenal glands of chick embryos" Endocrinology 56, 299-3o4 (1955)

243) KLEIN, N.W., GRAU, C.R., GREEN, N.J. — "Yolk-sac perfusion of chick embryos : effects of various media on survival" Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 97, 425-428 (1958)

244) KLEIN, N.W., MCCONNEL, E., BUCKINGHAM, B.J. — "Growth of explanted chick embryos on a chemically defined medium and effects of specific amino acid deficiences" Develop.Biol. 5, 296-3o8 (1962)

245) KLEIN, N.W., MCCONNEL, E., RIQUIER, D.J. — "Effects of high oxygen levels on the growth and survival of explanted chick embryos" Am.Zoologist 2, Abstr.35 (1962)

246) KLIMMER, O.R. — "Zur Pharmakologie und Toxikologie der Organozinn-Verbindungen" Angew.Chem. 7o, 135-136 (1958)

247) KLIMMER, O.R. — "Triphenylzinnacetat - ein Beitrag zur Toxikologie organischer Zinnverbindungen" Arzneimittel-Forschung 13, 432-436 (1963)

248) KLIMMER, O.R. "Pharmakologische und biologische Voraussetzungen für die Verwendung von Kunststoffen in der Medizin" Melsunger med.-pharmazeut. Mitteilungen 1oo, 2431-2443 (1963)

249) KLIMMER, O.R. "Toxikologische Untersuchungen mit Triphenylzinnacetat" Zentralbl.Vet.Med. A 11, 29-39 (1964)

25o) KLIMMER, O.R. "Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel" Hundt-Verlag, Hattingen (1964) , p.67

251) KLIMMER, O.R. "Die Anwendung von Organozinn-verbindungen in experimentell-toxikologischer Sicht" Arzneimittel-Forschung 19, 934-939 (1969)

252) KLIMMER, O.R., NEBEL, U. "Experimentelle Untersuchungen zur Frage der Toxizität einiger Stabilisatoren in Kunststoffen aus Polyvinylchlorid" Arzneimittel-Forschung 1o, 44-48 (196o)

253) KLIMMER, O.R., TAUBERGER, G. "Zur Pharmakologie und Toxikologie einiger Zinnalkyl- und -arylverbindungen" Arch.Exp.Path.Pharmakol. 24o, 36-37 (196o)

254) KNOWLES, D.G. "Stabilisation of vinyl copolymer resins" Plastics Technol. 4, 35-38 (196o)

255) KOBETZ, P., PINKERTON, R.C. "Tin alkyl compounds" C.A. 57, 1236 (1962)

256) KNOX, C.W., OLSEN, M.W. "The effect of tremulous air cells upon the hatchability of eggs" Poultry Science 15, 345-348 (1936)

257) KOBAYASHI, K., EIDUSON, S. "Norephidrine and dopamine in the developing chick brain" Develop.Psychobiol. 3, 13-34 (197o)

258) KOCHESKOV, K.A. "A methode of synthesis for mixed monohalogen organotin compounds of the aliphatic series" C.A. 29, 365o (1935)

259) KOCHESKOV, A.K., FREÎDLINA, R. "Some new possibilities of synthesis of metalloorganic compounds of lead, tin and thallium " C.A. 44, 9342 (195o)

26o) KOCHESKOV, A.K., FREIDLINA, R. — "New synthesis of metallo-organic compounds of lead, tin and thallium" C.A. 5o, 7728 (1956)

261) KONDO, K. — "Breed differences in the response of the male reproductive organs of chicken" J.Exp.Zool. 141, 1-14 (196o)

262) KOZELKA, A.W., GALLAGHER, T. — "Effect of male hormone extracts, theelin and theelol on the chick embryo" Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 31, 1143-1144 (1934)

263) KRAUSE, E. — "Eine wirkungsvolle Beeinflussung des experimentellen Mäuse-Carcinoms durch organische Bleiverbindungen" Ber.dtsch.chem.Ges. 62, 135-137 (1929)

264) KREYBIG, T. von, KREYBIG-HACKENBERGER, I. von — "Allgemeine Grundlagen der Methodik des teratologischen Tierexperimentes" Arzneimittel-Forschung 17, 39o-392 (1966)

265) KREYBIG, T. von, SCHMIDT, W. — "Chemisch induzierte Fetopathien bei der Ratte" Arzneimittelforschung 17, 1o93-11oo (1967)

266) LANDAUER, W. — "The hatchability of chicken eggs" Storr's Agric.Exp.Stat.Bull. 216, 231pp (1937)

267) LANDAUER, W. — "Experimental studies concerning the development of chicken embryos - The toxic action of lithium and magnesium salts" Poultry Science 8, 3o1-312 (1929)

268) LANDAUER, W. — "Studies on the Creeper fowl - The effect of selenium and assymmetry of selenium-induced malformations" J.Exp.Zool. 83, 431-443 (194o)

269) LANDAUER, W. — "Sex and season in relation to malformations of chick embryos" Anat.Rec. 86, 365-372 (1943)

27o) LANDAUER, W. — "Rumplessness of chicken embryos produced by the injection of insulin and other chemicals" J.Exp.Zool. 98, 65-77 (1945)

271) LANDAUER, W. — "Potentiating effects of adrenal cortical extract on insulin-induced abnormalities of chick development" Endocrinology 41, 489-493 (1947)

272) LANDAUER, W. "Insulin-induced abnormalities of beak, extremities and eyes in chickens" J.Exp.Zool. 1o5, 145-172 (1947)

273) LANDAUER, W. "The effect of nicotinamide and α-ketoglutaric acid on the teratogenic action of insulin" J.Exp.Zool. 1o9, 283-29o (1948)

274) LANDAUER, W. "The effect of insulin on development of duck embryos" J.Exp.Zool. 117, 559-571 (1951)

275) LANDAUER, W. "Malformations of chicken embryos produced by boric acid and the probable role of riboflavin in their origin" J.Exp.Zool. 12o, 469-5o8 (1952)

276) LANDAUER, W. "Genetic and environmental factors in the teratogenic effects of boric acid on chicken embryos" Genetics 38, 216-228 (1953)

277) LANDAUER, W. "Complex formation and chemical specifity of boric acid in production of chicken embryo malformations" Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 82, 633-636 (1953)

278) LANDAUER, W. "The effect of time of injection and of dosage on absolute and relativ length of femur, tibiotarsus and tarsometatarsus in chicken embryos treated with insulin or pilocarpin" Growth 17, 87-1o9 (1953)

279) LANDAUER, W. "On the chemical production of developmental abnormalities and of phenocopies in chicken embryos" J.Cellul. and Comp.Physiol. 43, 261-3o5 (1954)

28o) LANDAUER, W. "Abnormality of down pigmentation associated with experimentally produced skeletal defects of chickens" Proc.Nat.Acad.Sci.USA 39, 54-58 (1953)

281) LANDAUER, W. "The teratogenic activity of pilocarpine, pilocarpidine and their isomeres, with special references to the importance of steric configuration" J.Exp.Zool. 132, 39-5o (1956)

282) LANDAUER, W. "Niacin antagonists and chick development" J.Exp.Zool. 136, 5o9-53o (1957)

283) LANDAUER, W., BAUMANN, L. "Rumplessness of chicken embryos produced by mechanical shaking of eggs prior to incubation"
J.Exp.Zool. 93, 51-74 (1943)

284) LANDAUER, W., BLISS, C.I. "Insulin-induced rumplessness of chickens III "
J.Exp.Zool. 1o2, 1-22 (1946)

284) LANDAUER, W., LANG, E.H. "Insulin-induced rumplessness of chickens II "
J.Exp.Zool. 1o1, 41-5o (1946)

285) LANDAUER, W., RHODES, M.B. "Further observations on the teratogenic nature of insulin and its modification by supplementary treatment"
J.Exp.Zool. 119, 221-261 (1952)

286) LAUBER, J.K., SHUTZE, J.V. "Accelerated growth of embryo chicks under the influence of light"
Growth 28, 179-19o (1964)

287) LEE, J.C., BAKAY, L. "Ultrastructural change in the ecematous central nervous system"
Arch.Neurol. 13, 48-57 (1965)

288) LEMBURG, P. "Histophysiologische Untersuchungen zum Problem des Flüssigkeits- und Stofftransportes in der frühen Embryonalentwicklung"
Zeitschrift für Zellforschung
57, 737-765 (1962)

289) LEMEZ, L. "The blood of chick embryos : quantitative embryology at a cellular level"
Adv.Morph. 3, 197-246 (1964)

29o) LEPKOVSKY, S., TAYLOR, L.W., Jukes, T.H., ALMQUIST, H.J. "The effect of riboflavin and the filtrate factor on egg production and hatchability"
Hilgardia 11, 559-591 (1938)

291) LEWIS, F.B. "Organotin compounds"
C.A. 52, 1111o (1958)

292) LEWIS, W.R. "Organotin compounds as fungicides"
Chem.Prod. 21, 431-432 (1958)

293) LUCKEY, T.D. "Thymic hormones"
Urban & Schwarzenberg, München (1973)

294) LUIJTEN, J.G.A. "Organozinnverbindungen"
Metall 18, 814-816 (1964)

295) LUIJTEN, J.G.A., KERK, G.J.M. van der "Investigations on organotin compounds - XIV "
J.Appl.Chem. 11, 35-37 (1961)

296) LUIJTEN, J.G.A., KEYSSELITZ, B. — "Möglichkeiten für Organozinn-Verbindungen im Holzschutz" Angew.Chem. 7o, 136 (1958)

297) LUIJTEN, J.G.A., KLIMMER, O.R. — "Eine toxikologische Würdigung der Organozinnverbindungen" TRI-Veröffentlichung Nr.481 , 18p (1974)

298) LUNDY, H. — "A review of the effects of temperature, humidity, turning and gaseous environment in the incubator on the hatchability of the hen's egg" In :"The Fertility and Hatchability of the Hen's Egg" Oliver & Boyd, Edinburgh (1969), p.143-176

299) LYDIARD, R.B., SPARBER, S.B. — "Evidence for a critical periode for postnatal elevation of brain thyrosin hydroxylase activity resulting from reserpine administration during embryonic development" J.Pharmacol.Exp.Therap. 189, 37o-379 (1974)

3oo) LYDIARD, R.B., FOSSUM, L.H., SPARBER, S.B. — "Postnatal elevation of brain thyrosine-hydroxylase activity, without concurrent increases in steady-state catecholamine levels, resulting from dl-α-methylparathyrosine administration during embryonic development" J.Pharmacol.Exp.Therap. 194, 27-36 (1975)

3o1) LYLE, W.H. — "Lesions of the skin in process workers caused by contact with butyltin compounds" Brit.J.Ind.Med. 15, 193-196 (1958)

3o2) MACK, G.P., PARKER, E. — "Halogen-containing resins stabilized with polymeric organotin dialkyles" C.A. 46, 11767 (1952)

3o3) MACK, G.P., PARKER, E. — "Organotin compounds" C.A. 47, 4358 (1953)

3o4) MACK, G.P., PARKER, E. — "Polymeric organotin compounds" C.A. 47, 11224 (1953)

3o5) MACK, G.P., PARKER, E. — "Organotin sulfonamides" C.A. 48, 142o (1958)

3o6) MAGEE, P.N., STONER, H.B., BARNES, J.M. — "The experimental production of oedema in the central nervous system of the rat by triethyltin compounds" J.Path.Bact. 73, 1o7-124 (1957)

307) MANULKIN, Z.M. "Cleavage of radicals from organome - tallic compounds of metals of group IV" C.A. 42, 6742 (1948)

308) MARCH, B.E., COATES, V., GOUDIE, C. "Delayed hatching time of chicks from dams fed excess vitamin A and from eggs injected with vitamin A" Poultry Science 5, 891 (1972)

309) MARKS, G.C., BENTON, J.L., THOMAS, C.M. "The thermal degradation of poly(vinyl chloride) in a nitrogen atmosphere" Soc.Chem.Ind.Monogr. 26, 204-235 (1967)

310) MARLIAC, J.P. "Injection of chemicals into chicken eggs as a toxicy test" Fed.Proc. 21, 450 (1962)

311) MARLIAC, J.P., MUTCHLER, M.K. "Use of the chick embryo technique for detecting potentiating effects of chemicals" Fed.Proc. 22, 188 (1963)

312) MAZUR, H. "Determination of selected stabilizators for polyvinyl chlorid in plastic artic- les of common use tests on migration rate with special reference to organo- tin compounds" Rocz.Panstw.Zakl.Hig. 16, 275-280 (1965)

313) MAZUR, P.A. "Organotin compounds of organic amine" C.A. 57, 12536 (1962)

314) MCCARTNEY, M.G., SCHAFFNER, C.S. "Chick thyroid size and incubation period as influenced by thyroxine, thiouracil and thyroprotein" Poultry Science 28, 223-228 (1949)

315) MCCLYMONT, G.L., HART, L. "Studies on nutrition of poultry I" Australian Veterinary J. 23, 247-253 (1947)

316) MCDERMOTT, J.P. "Noncorrosive lubricating oil" C.A. 51, 10892 (1957)

317) MCLAUGHLIN, J., MUTCHLER, M.K. "Toxicity of some chemicals measured by injection into chicken eggs" Fed.Proc. 21, 450 (1962)

318) MCLAUGHLIN, J., MARLIAC, J.P., VERRETT, M.J., MUTCHLER, M.K., FITZHUGH, O.G. "The injection of chemicals into the yolk sac of fertile eggs prior to incubation as a toxicity test" Tox.Appl.Chem. 5, 760-771 (1963)

319) MCLAUGHLIN, J., MARLIAC, J.P., VERRETT, M.J., MUTCHLER, M.K., FITZHUGH, O.G. — "Toxicity of fourteen volatile chemicals as measured by the chick embryo methode" Amer.Ind.Hyg.Assoc. 25, 282-284 (1964)

32o) MEINEMA, H.A., BURGER-WIERSMA, T., VERSLUIS-DEHAAN, G., GEVERS, E.C.T. — "Determination of trace amounts of butyltin compounds in aqueous systems by gas chromatography/mass spectrometry" TRI-Veröffentlichung (   )

321) MELLANBY, E. — "Preliminary experiments on the effect of methionine sulfoximine on the developing chick and on transplantable tumors" Brit.J.Nutr. 1o, 264-274 (1956)

322) MELLEN, W.J. — "Further comments on "controlling sex" in chickens" Poultry Science 36, 1384-1386 (1957)

323) MEL'NIKOV, N.N. — "Antiseptic protection of nonmetallic surfaces" C.A. 54, 12472 (196o)

324) METALORGANA ETS — "Emulsifiable organotin compounds" C.A. 59, 14o22 (1963)

325) METAL & THERMIT CORPORATION — "Antiozonants for elastomers" C.A. 52, 9644 (1958)

326) METAL & THERMIT CORPORATION — "Hydrocarbontin isodithiocarbamates" C.A. 53, 7o23 (1959)

327) MEYER, R.K., RAO, M.A., ASPINAL, R.L. — "Inhibition of the development of the bursa of Fabricius in the embryos of the common fowl by 19-nortestosterone" Endocrinology 64, 89o-897 (1959)

328) MEYLER, F.I., WILLEBRANDS, A.F., DURRER, D. — "The influence of polyvinyl chloride (P.V.C.) tubings on the isolated perfused rats heart" Circ.Res. 8, 44-46 (196o)

329) MILLER, J.F.A.P., DUKOR, P. — "Die Biologie des Thymus nach dem heutigen stand der Forschung" Akademische Verlagsgesellschaft, Frankfurt, (1964)

33o) MILLER, R.R., HARTUNG, R., CORNISH, H.H. — "In vitro effects of dialkyltin compounds on suspended rat thymocytes" Society of Toxicology, Abstracts of the 17th annual meeting p.263, Nr.3o7 (1978)

331) MILLER, S.M. "Organozinnverbindungen verhindern Bewuchserscheinungen an Meßinstrumenten in Seewasser" Zinn und seine Verwendung 65, 1-4 (1965)

332) MODIGNANI, R.L., FOÅ, P.P. "Inhibition of glucose-uptake by 2-deoxy-D-glucose in chick embryo heart" Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 112, 1o6-1o8 (1963)

333) MOORE, K.E., BRODY, T.M. "The effect of triethyltin on tissue amines" J.Pharmacol.Exp.Therap. 132, 6-12 (1961)

334) MOORE, K.E., BRODY, T.M. "The effect of triethyltin on mitochondrial swelling" Biochem.Pharmacol. 6, 134-142 (1961)

335) MORAN, T. "The effect of low temperature on hen's eggs" Proc.Roy.Soc.London 898, 436-456 (1925)

336) MORITA, S. "Die künstliche Erzeugung von Mehrfachmißbildungen im Hühnerei" Anat.Anz. 84, 81-88 (1937)

337) MOSCONA, M.H., KARNOFSKY, D.A. "Cortisone induced modifications in the development of the chick embryo" Endocrinology 66, 533-549 (196o)

338) MOSELEY, H.R. "Insulin-induced rumplessness of chickens" J.Exp.Zool. 1o5, 279-316 (1947)

339) NABER, E.C., CRAVENS, W.W., BAUMANN, C.A., BIRD, H.R. "The effect of thiamine analogs on embryonic development and growth of the chick" J.Nutr. 54, 579-591 (1954)

34o) NAUJOKS, H. "Der Einfluß kurzfristigen Sauerstoffmangels auf die Entwicklung des Hühnchens in den ersten fünf Bruttagen" Beitr.zur path.Anat.u. zur allg.Pathol. 113, 221-252 (1953)

341) NAUMOV, S.N., MANULKIN, Z.M. "Organic compounds of tin" C.A. 29, 5o71 (1935)

342) NEEDHAM, J. "The metabolism of the developing egg" Physiol.Rev. 5, 3-62 (1925)

343) NESMEYANOV, A.N., BORISOV, A.E., NOVIKOVA, N.V., OSIPOVA, M.A. "Synthesis of organotin compounds from organomercury compounds and salts of bivalent tin in inert solvents" C.A. 53, 1789o (1959)

344) NEUMANN, W.P. "Neues aus der Chemie der Organozinn-Verbindungen"
Angew.Chem. 75,225-235 (1963)

345) NEUMANN, W.P. "Die organische Chemie des Zinns"
Enke-Verlag, Stuttgart (1967)

346) NEW, D.A.T. "A new technique for the cultivation of the chick embryo in vitro"
J.Embryol.Exp.Morph. 3,326-331 (1955)

347) NICKEL, R., SCHUMMER, A., SEIFERLE, E. "Lehrbuch der Anatomie der Haustiere"
Bd. V, Verlag Paul Parey, Berlin (1973) p.57/1o7-1o8

348) NIEMANN, H. "Technische Herstellung von Organozinnverbindungen über Aluminiumalkyle"
Zinn und seine Verwedung 61, 6 (1964)

349) NIEUWENHUIS, P. "Contribution of the bursa of Fabricius to the maturation of the B-cell system in chickens"
Adv.Exp.Med.Biol. 66, 25-31 (1976)

35o) NIKONOROW, M., MASUR, H., PIEKACZ, H. "Effects of orally administered plasticiser and polyvinyl chloride stabilizers in the rat"
Toxicol.Appl.Pharmacol. 26, 253-259 (1973)

351) NOLTES, J.G., LUIJTEN, J.G.A., KERK, G.J.M. van der "Investigations on organotin compounds XV "
J.Appl.Chem. 11, 38-4o (1961)

352) N.V. de BATAAFSCHE PETROLEUM MAATSCHAPPIJ "Insecticides"
C.A. 46, 5781 (1952)

353) OETTEL, H. "Gesundheitsgefährdung durch Kunststoffe"
Arch.Exp.Path.Parmacol. 232, 77-134 (1958)

354) OORDT, G.J. van, RINKEL, G.L. "Der Einfluß von Geschlechtshormonen, insbesondere von Dehydroandrosteron, auf die Gonadenentwicklung von Hühnerembryonen"
Arch.für Entwicklungsmech. 14o, 59-8o (194o)

355) OPPENHEIM, R.W., LEVIN, H.L., HARTH, M.S. "An investigation of various egg-opening techniques for use in avian behavioral embryology"
Dev.Psychobiol. 6, 53-68 (1972)

356) OPPENHEIM, R.W., LEVIN, H.L. "Short term changes in incubation temperature : behavioral and physiological effects in the chick embryo from 6 to 2o days"
Dev.Psychobiol. 8(2), 1o3-114 (1975)

357) PALÉN, K., THÖRNEBY, L. "A simple methode for cultivating the early chick embryo in vitro" Experientia 32, 267-268 (1976)

358) PAPERMASTER, B.W., FRIEDMAN, D.I., GOOD, R.A. "Relationship of the bursa of Fabricius to immunologic responsiveness and homograft immunity in the chicken" Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 11o, 62-63 (1962)

359) PAPETTI, S., POST, H.W. "Studies in silico-organic compounds - organosilicon compounds containing tin" J.Org.Chem. 22, 526-528 (1957)

36o) PASSINO, H.J., MANTELL, R.M. "Organotin compounds" C.A. 46, 3556 (1952)

361) PEAKER, M. (Edit.) "Avian Physiology" Symposion of the Zoological Sosiety of London, Academic Press, London (1975)

362) PELIKAN, Z. "Effects of bis(tri-n-butyltin)oxide on the eyes of rabbits" Brit.J.Industr.Med. 26, 165-17o (1969)

363) PELICAN, Z., CERNY, E., POLSTER, M. "Toxic effects of some di-n-octyltin compounds in white mice" Cosmet.Tox. 8, 655-658 (197o)

364) PENN, W.S. "PVC-Technology" Maclaren & Sons, London (1966)

365) PERMACHEM CORP. "Organotin - compound dispersions for treatment of cloth" C.A. 54, 2554o (196o)

366) PETERS, J.J., VONDERAHE, A.R., POWERS, T.H. "The functional chronology in developing chick nervous system" J.Exp. Zool. 133, 5o5-518 (1956)

367) PFEIFFER, P., LEHNHARDT, R., LUFTENSTEINER, H., PRADE, R., SCHNURMANN, K., TRUSKIER, P. "Beitrag zur Kenntnis der Alkyl- und Arylverbindungen des Zinnes" Z.Anorgan.Chem. 68, 1o2-122 (191o)

368) PIATER, H., FIGGE, K. "Migration von Hilfsstoffen der Kunststoffverarbeitung aus Folien in flüssige und feste Fette bzw. Simulantien VIII " Deutsche Lebensmittel Rundschau 67, 265-269 (1971)

369) PICCO, D. "Anticryptogamic activity of tin triphenylacetat" C.A. 52, 11335 (1958)

37o) PICCO, D. "Tin triphenylacetate as a fungicid" C.A. 52, 2o84o (1958)

371) PIERRO, L.J. "Teratogenic action of actinomycin D in the embryonic chick" J.Exp.Zool. 147, 2o3-21o (1961)

372) PIERRO, L.J., SPIGGLE, J. "Effect of deoxyguanosine on skeletal development in the chick embryo" Nature 2o9, 782-785 (1966)

373) PINCUS, G., ERICKSON, A.E. "Sex modifications in hen's eggs following immersion in diethylstilbestrol - solutions" Endocrinology 71, 24-3o (1962)

374) PINCUS, G., HOPKINS, T.F. "The effect of various estrogens and steroid substances on sex differentiation in the fowl" Endocrinology 62, 112-118 (1958)

375) PIVER, W.T. "Organotin compounds : industrial applications and biological investigations" Environ.Health Perspect 4, 61-79 (1973)

376) PLATT, B.S., STEWARD, R.J.C., GUPTA, S.R. "The chick embryo as a test organism for toxic substances in food" Proc.Nutr.Soc. 21, XXX-XXXi (1962)

377) POLKINHORN, H., TAPLEY, C.G. "Organic tin compounds" C.A. 5o, 8725 (1956)

378) POLLER, R.C. "The chemistry of organotin compounds" Logos Press Ltd., London, (197o)

379) POTOP, I., BIENER, J., BALACEANU, M., LUPULESCU, A. "Action de certain fractions isolées du thymus sur l'embryogenese et sur le development des greffes tumorales dans l'oeuf" Neoplasma 9, 563-578 (1962)

38o) PRÜLL, G., ROMPEL, K. "Neurologische und hirnelektrische Störungen bei akuter Vergiftung mit Organozinnverbindungen" Der Nervenarzt 41, 516-52o (197o)

381) QUATTLEBAUM, W.N., NOFFSINGER, C.A. "Vinyl-resin compositions suitable for coating paper etc." C.A. 37, 3533 (1943)

382) RAMSDEN, H.E. "Alkyl-organotin compounds" C.A. 49, 4o11 (1955)

383) RAMSDEN, H.E. "Hydrocarbon tin derivatives " C.A. 51, 2o33 (1957)

384) RAMSDEN, H.E. "Preparing vinyltin compounds" C.A. 53, 131o8 (1959)

385) RAMSDEN, H.E., DAVIDSON, H. "Tetraalkyl and tetraaryl tin compounds" C.A. 48, 1oo57 (1954)

386) RAMSDEN, H.E., GLOSKEY, C.R. "Organotin compounds" C.A. 49, 5512 (1955)

387) RAMSDEN, H.E., WEINBERG, R.L. "Rubber stabilized with hydrocarbontin mercapto alcohol esters" C.A. 51, 1o94o (1957)

388) REED, D.J., WOODBURY, D.M., HOLTZER, R.L. "Brain edema elektrolytes and extracellular space" Arch.Neurol. 1o, 6o1-616 (1964)

389) REES, G. "A possible solution to the problem of the ubiquitous hospital infection" South Africa Med.J. 9, 157-158 (1962)

39o) REUSS, H.H.V. "Organozinn-Verbindungen als Stabilisatoren für Polyvinylchlorid" Angew.Chem. 7o, 135 (1958)

391) RIDGWAY, L.P., KARNOFSKY, D.A. "The effects of metals on the chick embryo : toxicity and production of abnormalities in development" Ann.NY,Acad.Sci. 55, 2o3-215 (1952)

392) RIDGWAY, L.P., PATTERSON, P.A., KARNOFSKY, D.A. "Effect of thallium, lead and other metals on development of chick embryos" Fed.Proc. 9, 341 (195o)

393) ROBINSON, I.M. "Effects of some organotin compounds on tissue amine levels in rats" Food Cosmet.Toxicol. 7, 47-52 (1969)

394) ROCHOW, E.G. "Dimethyltin dichlorid" C.A. 49, 47o5 (1955)

395) ROCHOW, E.G., SEYFERTH, D. "The elektrolytic dissociation of dimethyltin dichlorid" J.Am.Chem.Soc. 75, 2877-2878 (1953)

396) ROEDER, M. "The induction of arginase activity in the chick embryo" J.Cell.Comp.Physiology 5o, 241-248 (1957)

397) ROMANOFF, A.L. "Effects of different temperatures in the incubator on the prenatal and postnatal development of the chick" Brit.Poultry Science 15, 311-315 (1936)

398) ROMANOFF, A.L., SAUERNFEIND, J.C. "Influence of riboflavin-deficiency in eggs on embryonic development (Gallus Domesticus) Anat.Rec. 82, 11-21 (1942)

399) ROMANOFF, A.L., LAUFER , H. "The effect of injected thiourea on the development of some organs of the chick embryo" Endocrinology 59, 611-619 (1956)

4oo) ROMANOFF, A.L., ROMANOFF, A.J. "The avian egg" Wiley, New York (1949) p. 311-574

4o1) ROSE, M.S., LOCK, E.A. "The interaction of triethyltin with a component of guinea-pig liver supernatant" Biochem.J. 12o, 151-157 (197o)

4o2) ROSENTHAL, E., SPARBER, S.B. "Methylmercury dicyandiamide: retardation of detour learning in chicks hatched from injected eggs" Life Science Part I, 11, 883-892 (1972)

4o3) ROSS, A. "Industrial applications of organotin compounds" Ann.NY.Acad.Sci. 125, 1o7-123 (1965)

4o4) ROSSITER, W.T., CURRIE, C.C. "Stabilized, corrosion-inhibiting polymeric organosilicon compositions" C.A. 5o, 11713 (1956)

4o5) ROTH, J.S., BUCCINO, G., KLEIN, N.W. "Inhibition of growth of chick embryo by inhibition of deoxycytidylate deaminase" Science 142, 1473-1474 (1963)

4o6) RÜBSAAMEN, H. "Über die teratogenetische Wirkung des Sauerstoffmangels in der Frühentwicklung" Beitr.path.Anat. 112, 336-379 (1952)

4o7) RUCH, J.V. "Modifications testiculaires observées chez des embryons de poulets issus d'oeufs doubles" C.R.Séance Soc.Biol.Strasbourg , 119-121 (196o)

4o8) RUGELEY, E.W., QUATTLEBAUM, W.M. "Stabilizers for vinyl-resin filaments" C.A. 38, 3392 (1944)

4o9) RUGGIERO, J.S., SKAUEN, D.M. "Evaluation of the absorption of radioactive sodium iodide from various ointment-bases by means of a chick embryo technique" J.Pharm.Sci. 51, 235-239 (1962)

41o) RUMPLER, Y., ZAHND, J.P. "Action d'un antithyroidien, le 1-méthyl,2-mercapto-imidazole (basolan) sur la croissance en épaisseur de l'os embryonnaire de poule" C.R.Séances Soc.Biol. 1956, 172-175 (1961)

411) SALANT, W., RIEGER, J.B., TREUTHARDT, E.L.P. "Absorption and fate of tin in the body" J.Biol.Chem. 17, 265-273 (1914)

412) SALSBURY'S LABORATORIES "Basic dibutyltin dichloride" C.A. 49, 14797 (1955)

413) SCHELLONG, G. "Herz- und Gefäßmißbildungen beim Hühnchen durch kurzfristigen Sauerstoffmangel" Beitr.path.Anat. 114, 212-243 (1954)

414) SCHULZ-UTERMÖHL, H., WEISSENSTEIN, H. "Versuche zur biologischen Wirksamkeit von Tributyl-Sn113-Benzoat" Zinn und seine Verwendung 61, 7 (1964)

415) SEIDLER, H., WOGGON, H., HÄRTIG, M., UHDE, W.J. "Beitrag zur Prüfung von Bedarfsgegenständen aus Plasten - Untersuchungen über die Auswanderung von Di-n-octyl-(-1-14C-)-zinndithioglycolsäure-2-äthylhexylester aus Hart-PVC in Speiseöl" Nahrung 13, 257-264 (1969)

416) SEIDLER, H., HÄRTIG, M., WOGGON, H. "Das Verhalten von 14C-markiertem Di-n-octylzinndithioglycolsäure-2-äthylhexylester und Di-n-octylzinndichlorid sowie 35S-markiertem Thioglycolsäure-2-äthylhexylester im Rattenorganismus" Z.ges.Hyg. 17, 6o3-6o8 (1971)

417) SEIDLER, H., HÄRTIG, M. WOGGON, H., UHDE, W.J. "Beitrag zur Prüfung von Bedarfsgegenständen aus Plasten - Untersuchungen über die Auswanderung von Di-n-octylzinndithioglycolsäure-(-1-14C-)-2-äthylhexylester (Stabilisator OTS) aus Hart-PVC in Speiseöl" Nahrung 15, 187-19o (1971)

418) SEIFTER, J. "Pharmacology of metal alkyls III" J.Pharmacol.Exp.Therap. 66, 32 (1939)

419) SEIFTER, J., RAMBOUSEK, E.S. "Intravenous injection of soluble tin compounds" J.Lab.Clin.Med. 28, 1344-1348 (1943)

42o) SEINEN, W., WILLEMS, M.I. "Toxicity of organotin compounds I" Tox.Appl.Pharmacol. 35, 63-75 (1976)

421) SEINEN, W., VOS, J.G., SPANJE, I. van, SNOEK, M., BRANDS, R., HOOYKAAS, H. "Toxicity of organotin compounds II" Tox.Appl.Pharmacol. 42, 197-212 (1977)

422) SEINEN, W., VOS, J.G., KRIEKEN, R. van, PENNINKS, A., BRANDS, R., HOOYKAAS, H. "Toxicity of organotin compounds III" Tox.Appl.Pharmacol. 42, 213-224 (1977)

423) SEINEN, W., PENNINKS, A. "Toxicity of organotin compounds IV" unveröffentlicht ("Immunesuppression as a consequence of of a selective cytotoxic activity of certain organometallic compounds on thymus and thymus dependent lymph nodes")

424) SHUTZE, J.V., LAUBER, J.K., KATO, M., WILSON, W.O. "Influence of incandescent and couloured light on chicken embryos during incubation" Nature 196, 594-595 (1962)

425) SIEGEL, P.B., ISAKSON, S.T., COLEMAN, F.N., HUFFMAN, B.J. "Photoacceleration of development in chick embryos" Comp.Biochem.Physiol. 28, 753-758 (1969)

426) SINHA, M.D., RINGER, R.K., COLEMAN, T.H., ZINDEL, H.C. "The effect of injected thiouracil on body weight and hatchability of the chick embryo" Poultry Science 38, 14o5-14o9 (1956)

427) SMITH, A.C., ROCHOV, E.G. "Direct synthesis of organotin halides - preparation of dimethyltin dichloride" J.Am.Chem.Soc. 75, 41o3-41o5 (1953)

428) SMITH, A.E., ROCHOV, E.G. "New preparative methods for organotin halides" J.Am.Chem.Soc. 75, 41o5-41o6 (1953)

429) SMITH, E.E., GRAY, P. "The distribution of copper-64 in early embryo chicks" J.Exp.Zool. 1o7, 183-2o6 (1948)

43o) SMITH, H.V. "The development of the organotin stabilizers" Rubber J. and internat.Plastics 136, 655-682 (1959)

431) SMITH, H.V. "Organic tin stabilizers for vinyl plastics" Plastics 17, 264-266 (1952)

432) SMITH, F.A. "Methyltin chlorides"
C.A. 47, 11224 (1953)

433) SMITH, H., CHAPMAN, I.V. "Use of the living chick embryo as a biological indicator of the effectiveness of chelating agents"
Nature 198, 32-33 (1963)

434) SMITH, P., SMITH, L. "Organotin compounds and applications"
Chemistry in Britain 11, 2o8-212 u. 226 (1975)

435) SMYTH, C.P. "Dipole moment and bond character in organometallic compounds"
J.Org.Chem. 6, 421-426 (1941)

436) SNEDECOR, J.G. "A study of some effects of sex hormones on the embryonic reproductive system and comb of the white Leghorn chick"
J.Exp.Zool. 11o, 2o5-246 (1949)

437) SNELL, E.E., CRAVENS, W.W. "Reversal of aminopterin inhibition in the chick embryo with desoxyribosides"
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 74, 87-91 (195o)

438) SNELL, E.E., QUARLES, E. "The effect of incubation on the vitamin content of eggs"
J.Nutrition 22, 483-489 (1941)

439) SONE, N., HAGIHARA, B. "Inhibitory action of trialkyltin compounds on oxidative phosphorylation in mitochondria"
J.Biochem. 56, 151-156 (1965)

44o) SPARBER, S.B., SHIDEMAN, F.E. "Detour learning in the chick: effect of reserpine administered during embryonic development
Develop. Psychobiology 2, 56-59 (1969)

441) SPARBER, S.B., SHIDEMAN, F.E. "Estimation of catecholamines in the brains of embryonic and newly hatched chickens and the effect of reserpine"
Develop. Psychobiology 2, 115-119 (1969)

442) SPARBER, S.B., SHIDEMAN, F.E. "Prenatal administration of reserpine: Effect upon hatching, behavior and brainstem catecholamines of the young chick"
Develop. Psychobiology 1, 236-244 (1968)

443) SPRATT, N.T. "Development in vitro of the early chick blastoderm explanted on yolk and albumen extract saline-ager substrata"
J. exp. Zool. 1o6, 345-365 (1947)

444) SPRATT, N.T. "Development of the early chick blastoderm on synthetic media"
J. Exp. Zool. 1o7, 39-64 (1948)

445) STAMM, W.A., BREINDEL, A.W., FREIBERG, A.H. — "Organotin sulfonates" C.A. 59, 14o23 (1963)

446) STEELE, D.E. — "Tubing materials" The Lancet 1, 419-42o (1959)

447) STOKSTAD, E.L.R., MANNING, P.D.V. — "Evidence of a new groth factor required by chicks" J.Biol.Chem. 125, 687-696 (1938)

448) STONER, H.B. — "Toxicity of triphenyltin" Brit.J.Industr.Med. 23, 222-229 (1966)

449) STONER, H.B., BARNES, J.M., DUFF, J.I. — "Studies on the toxicity of alkyl tin compounds" Brit.J.Pharm.Chemother. 1o, 16-25 (1955)

45o) STONER, H.B., THREFALL, C.J. — "The biochemistry of organotin compounds" Biochem.J. 69, 376-385 (1958)

451) STREICHER, E. — "The thiocyanate-space of rat brain in experimental cerebral edema" J.Neuropath.Exptl.Neurol. 21, 437-441 (1962)

452) STUDER, R.K., SIEGEL, B.A., MORGAN, J., POTCHEN, E.J. — "Dexamethasone therapy of triethyltin induced cerebral edema" Exp.Neurol. 38, 429-437 (1973)

453) STURM, E. — "Ullmanns Enzyklopädie der technischen Chemie" Bd.XII , p.4 Urban & Schwarzenberg, München (196o)

454) SUZUKAWA, T. — "Reagents for treatment of glass surface" C.A. 72, 58548 (197o)

455) SCHLESINGER, A.B. — "The structural significance of the avian yolk in embryogenesis" J.Exp.Zool. 138, 223-258 (1958)

456) SCHMIDT, W. — "Struktur und Funktion des Amnionepithels von Mensch und Huhn" Zschr.für Zellf. 61, 642-66o (1963)

457) SCHWARZER, E.W., CLARK, W.F. — "Some observations upon the pharmacology of tin" J.Pharmacol.Exp.Therap. 31, 224-225 (1927)

458) TAMIMIE, H.S., FOX, M.W. — "Effect of continuous and intermittent light exposure on the embryonic development of chicken eggs" Comp.Biochem.Physiol. 2o, 793-799 (1967)

459) TAUBERGER, G. — "Tierexperimentelle Analyse der Triphenylzinnwirkung nach intravenöser Injektion" Med.Exper. 9, 393-399 (1963)

46o) TAUBERGER, G., KLIMMER, O.R. — "Zur Pharmakologie organischer Zinnverbindungen" Arch.Exp.Path.Pharmacol. 242, 37o-389 (1961)

461) TAYLOR, A., THACKER, J., PENNINGTON, D. — "Growth of cancer tissue in the yolk sac of the chick embryo" Science 96, 342-343 (1942)

462) TCHERNOUKH, A.M., ALEXANDROV, P.N. — "The influence of some antibiotica and chemotherapeutic drugs on the development of the embryo of the hen" Antibiot.et Chemother. 11, 342-349 (1963)

463) THER, L. — "Grundlagen der experimentellen Arzneimittelforschung" Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart (1965), p.82-91

464) THOMAS, A.B., ROCHOW, E.G. — "The conductimetric behaviour in nonaqueous solvents of organometallic chlorides from group IVB" J.Inorg.Nuclear Chem. 4, 2o5-215 (1957)

465) THORBECKE, G.J., WARNER, N., HOCHWALD, G., OHANIAN, S. — "Immune globulin production by the Bursa of Fabricius of young chickens" Immunology 15, 123 -134 (1968)

466) TIENHOVEN, A. van — "A method of 'controlling sex' by dipping of eggs in hormone solutions" Poultry Sci. 36, 628-632 (1957)

467) TISNA-AMIDJAJA, D.A. — "Wachstumsbeeinflussung durch Acetylcholin, Histamin, Alloxan, Nadisan, Aristamid, Nicotinsäureamid und p-Aminobenzoesäure beim Hühnerembryo" Arch.f. Entwicklungsmech. d. Org. 15o 655-688 (1958)

468) TOMKA, L.A., WEINBERG, E.L. — "Organotin compounds as nonstaining, nondiscoloring antioxidants for rubber" C.A. 51, 15166 (1957)

469) TORACK, R.M. — "The relationship between adenosintriphosphatase activity and triethyltin toxicity in the production of cerebral edema of the rat" Am.J.Pathol. 46, 245-251 (1965)

47o) TORACK, R., GORDON, J., PROKOP, J. — "Pathobiology of acute triethyltin intoxication" Int. Rev.Neurobiol. 12, 45-86 (197o)

471) UHDE, W.J. "Studien zur Migration von Antioxydantien und Stabilisatoren aus Plastverpackungen in Speiseöl unter Berücksichtigung lebensmittelhygienischer Aspekte" Dissertation, 1969, Berlin

472) VACCA, C. "Effects oo pantothenic acid (calcium pantothenate) and the thyroxine on the development of chicken embryos" Nature 189, 66-67 (1961)

473) VARVILL, M. "Antifouling coatings" C.A. 55. 1596o (1961)

474) VENZKE, W.G. "The response of the gonads of chick embryos to Gonadogen" Am.J.Vet.Res. 2, 281-284 (1941)

475) VERRETT, M.J., MCLAUGHLIN, J. "Use of the chick embryo technique in the evaluation of the toxicity of drugs" Fed.Proc. 22, 188 (1963)

476) VIDAL, A. "Influence de la thiourée sur le développement de l'embryon de poulet" Ann.Endocrinol. 13, 982-99o (1952)

477) VLADIMIROV, G. "The effect of some factors upon the blood sugar of embryo chicks" J. Physiol. 72, 411-424 (1931)

478) VOIGT, J "Die Stabilisierung der Kunststoffe gegen Licht und Wärme" Berlin,.Springer Verlag (1966)

479) WALDEYER, A. "Anatomie des Menschen" 12. Auflage, Berlin, de Gruyter, Bd.2 p. 562/3 (1975)

48o) WALKER, J.B. "Quantitative studies on enzyme repression in the developing chick embryo and newly hatched chick" Proc.Soc.Exp.Biol. 112, 245-247 (1963)

481) WALKER, M.S., WALKER, J.B. "Repression of transaminase activity during embryonic development" J.Biol.Chem. 237, 473-476 (1962)

482) WALKER, N.E., GRAU, C.R. "Response of chick embryos to variation of yolk concentration" Fed.Proc. 21, 394 (1962)

483) WALKER, N.E. "Distribution of chemicals infected into fertile eggs and its effect upon apparent toxicity Tox.Appl.Pharm. 1o, 29o-299 (1967)

484) WEINBERG, E.L. "Alkyltin dihalides"
C.A. 49, 47o5 (1955)

489) WEINBERG, E.L. "Anthelmintic tin compounds"
C.A. 53, 17441 (1959)

49o) WEINBERG, E.L., TOMKA, L.A. "Hydrocarbyltin selenides and tellurides as nondiscoloring rubber antioxidants"
C.A. 53, 3758 (1959)

491) WEKSTEIN, D.R., ZOLMAN, J.F. "Homeothermic development of the young chick"
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 125, 294-297 (1967)

492) WHEELER, R.S., HOFFMANN, E. "Goiterous chicks from iodine-injected eggs"
Endocrinology 45, 2o8-2o9 (1949)

493) WHITE, T.P. "The action of tin on the animal organism"
Pharm.J. 17, 166 (1886)

494) WIECZOREK, H. "Isolierung und quantitative Bestimmung von Organozinnverbindungen in Speiseöl und Speiseessig nach dem Kontakt mit stabilisierten Hart-PVC-Folien"
Deutsche Lebensmittel Rundschau 66, 92-95 (197o)

495) WILLIER, B.H., GALLAGHER, T.F., KOCH, F.C. "The modification of sex development in the chick embryo by male and female sex hormones"
Physiol.Zool. 1o, 1o1-122 (1937)

496) WILLIAMSON, A.P., BLATTNER, R.J., LUTZ, H.R. "Abnormalities in chick embryos following thaliodomide and other insoluble compounds in the amniotic cavity"
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 112, 1o22-1o24 (1963)

497) WILLIAMSON, A.P., BLATTNER, SIMONSEN, L. "Cataracts following Mumps virus in early chick embryos"
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 96, 224-228 (1957)

498) WIRTH, H.O., ANDREAS, H. "The stabilisation of PVC against heat and light"
Pure and appl.Chem. 49, 627-648 (1977)

499) WISLOCKI, G.B. "Note on the behavior of trypan blue injected into the developing egg of the hen"
Anat.Rec. 22, 267-269 (1921)

5oo) WITSCHI, E. "Utilisation of the egg albumin by the avian fetus" In :"Ornithologie als biologische Wissenschaft" Edit.: MAYR, E. und SCHÜZ, E. C.Winter, Heidelberg, (1949) p.111-122

5o1) WOGGON, H., KÖHLER, U., UHDE, W.J. "Beitrag zur Prüfung von Bedarfsgegenständen aus Plasten" Nahrung 11, 8o9-817 (1967)

5o2) WOGGON, H., UHDE, W.J. "Toxicologische Aspekte bei der Migration von PVC-Stabilisatoren in Lebensmittel" Plaste Kaut. 16, 88-91 (1969)

5o3) WOGGON, H., UHDE, W.J. "Zur Frage der gesundheitlichen Unbedenklichkeit von Plasten" Z.Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung 16, 227-244 (1972)

5o4) WOGGON, H., UHDE, W.J. "Hygienische und toxikologische Gesichtspunkte beim Einsatz von Plasten und PLasthilfsstoffen , insbesondere Stabilisatoren, im Lebensmittelsektor" Z.Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung 16, 669 (1972)

5o5) WOGGON, H., UHDE, W.J., SÄUBERLICH, H. "Neuere Ergebnisse über die Migration von Organozinn-Stabilisatoren in Lebensmittel" Z.Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung 16, 645-655 (1972)

5o6) WOGGON, H., UHDE, W.J. "Lebensmittelhygienische und toxikologische Gesichtspunkte beim Einsatz von Plasten und Plasthilfsstoffen, insbesondere Stabilisatoren im Lebensmittelsektor" Z.Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung 16, 669 (1972)

5o7) WOGGON, H., UHDE, W.J., SÄUBERLICH, H. "Zur Analytik von Organozinn-Verbindungen und deren Abbau- bzw. Zersetzungsprodukte" Z.Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung 18, 45-46 (1973)

5o8) WOGGON, H., SÄUBERLICH, H., UHDE, W.J. "Zur Analytik von Organozinn-Verbindungen und deren Abbau- bzw. Zersetzungsprodukte" Z.Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung 18, 97 (1973)

5o9) WOGGON, H. "Zur inversvoltametrischen Bestimmung von bioziden Organozinnverbindung" Z.Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung 18, 196 (1973)

51o) WOLFF, E. "L'évolution, après l'éclosion, des poulets males" Arch.Anat.Hist.Embryol. 23, 5-38 (1935)

511) WOLSTENHOLM, G.E.W., PORTER, R. "The thymus : experimental and clinical studies" J. & A.Churchill Ltd., London, (1966)

512) WURMBACH, H. "Untersuchungen über die Wirkung von 3-Methyl-3,4-dihydroxy-4-phenyl-butin-1 (Substanz Kö339) auf Hühnerembryonen" Ärztl.Forschung 17, 383-391

513) YANG, T.J., YANG, T.S., LIANG, H.M. "Thalidomide and congenital abnormalities" Lancet 1, 552-553 (1963)

514) YNGVE, V. "Heat-stable vinyl-resin compositions suitable for coating steel etc." C.A. 36, 2647 (1942)

515) YNGVE, V. "Vinyl resin compositions" C.A. 37, 3532 (1943)

516) YOUNGER, J.S., WARD, E.N., SALK, J.E. "Effect of 5-amino-7-hydroxy-1H-v-triazolo(d)pyrimidine on growth and development of the chick embryo" Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 75, 157-161 (195o)

517) ZAPP, M. "Untersuchungen zur Embryotoxizität und Teratogenität von gesättigten alipathischen Rhodaniden am Modell des Hühnerembryos" Dissertation, Münster (1976)

518) ZEDLER, R.J. "Organozinnverbindungen als industrielle Biochemikalien" Zinn und seine Verwendung 53, 7-11 (1961)

519) ZEMAN, W., GADERMANN, E., HARDEBECK, K. "Beitrag zur Genese von Kreislaufregulationsstörungen - Vergiftung mit Zinnperalkylen" Arch.Klin.Med. 198, 713-721 (1951)

52o) ZIETZ, J.R., BLITZER, S.M., REDMAN, H.E., ROBINSON, G.C. "Synthesis of higher alkyltin compounds from sodium-tin alloys" J.Org.Chem. 22, 6o-62 (1957)

521) ZWILLING, E. "Association of hypoglycemia with insulin mikromelia in chick embryos" J.Exp.Zool. 1o9, 197-214 (1948)

522) ZWILLING, E. "Reversal of insulin-induced hypoglycemia in chick embryos by nicotinamide and α-ketoglutaric acid" Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 71, 6o9-612 (1949)

523) ZWILLING, E. "Insulin-induced hypoglycemia and rumplessness in chick embryos" J.Exp.Zool. 117, 65-73 (1951)

524) ZWILLING, E. "Carbohydrate metabolism in insulin-treated chick embryos" Arch.Biochem.Biophysics 33, 228-242 (1951)

525) ZWILLING, E., BELL, J.T. de "Micromelia and growth retardation as independant effects of sulfanilamide in chick embryos" J.Exp.Zool. 115, 59-81 (195o)

Literaturnachtrag zur Tabelle B III - 1.

526) BEVELANDER, G., NAKAHARA, H., ROLLE, G. "The effect of tetracycline on the development of the skeletal system of the chick embryo" Develop.Biol. 2, 298-312 (196o)

527) CAPLAN, A.I. "Comparison of the capacity of nicotinamide and nicotinic acid to reliieve the effects of muscle and cartilage teratogens in developing chick embryos" Develop.Biol. 28, 344-351 (1972)

528) CONTI, G., MILIO, G. "Action de la vitamine et de l'antivitamine B_6 sur le développement de l'embryo de poulet" J.Embryol.exp.Morph. 14 I, 37-51 (1965)

529) DAUTLICK, J., STRITTMATTER, C.F. "Developmental and hormone-induced changes in chicken intestinal disaccharidases" Biochim.Biophys.Acta 222, 447-454 (197o)

53o) DURAISWAMI, P.K. "Comparison of congenital defects induced in developing chickens by certain teratogenic agents with those caused by insulin" J.Bone Joint Surg. 37, 277-294 (1955)

531) ELOVAARA, E., HEMMINIKI, K., VAINIO, H. "Effects of methylene chloride, trichloroethane, trichloroethylene and toluene on the development of chick embryos" Toxicology 12, 111-119 (1979)

532) ELRICK, H., KONIGSBERG, I.R., ARAI, Y. "Effect of glucagon on growth of chick embryo" Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 97, 542-544 (1958)

533) ETO, M., SEIFERT, J., ENGEL, J.L., CASIDA, J. "Organophosphorus and methylcarbamate teratogens : structural requirements for inducing embryonic abnormalities in chickens and kynurenine formidase inhibition in mouse liver" Toxicol.appl.Pharmacol. 54, 2o-3o (198o)

534) GERLINGER, P., RUCH, J.V., CLAVERT, J. — "Note préliminaire sur l'action du cyclophosphamide (endoxan) sur le développement de l'embryo" Compt.Rend.Hebd. 255, 3229-3231 (1962)

535) GOERTTLER, K., HARTMANN, F. — "Histopathologische Befunde am Hühnchenkeim nach Applikation von Beta-Aminopropionitril (BAPN; Lathyrusfaktor" Klin.Wschr. 39, 1o77-1o8o (1961)

536) HALL, B.K. — "Skeletal defects in embryonic chicks induced by administration of Beta-Aminopropionitrile" Teratology 5, 81-88 (1972)

537) JELINEK, R. — "Embryotoxicity assay on morphogenetic systems" In : "Evaluation of embryotoxicity, Mutagenicity and carcinogenicity risks in new drugs" Edit. : BENESOVA, O., RYCHTER, Z., JELINEK, R. Proc. of the 3rd Symposium on "Toxicological Testing for Safety of New Drugs" Prag, 1976, p. 195-2o5

538) JELINEK, R. — "The chick embryotoxicity test" In : "Methods in Prenatal Toxicology" Stuttgart, 1977, G.Thieme Verlag, p. 381-386

539) JOHNSON, L.G. — "Endocrine influences on growth and pigmentation of embryonic down feather cells" J.Embryol.exp.Morph. 2o, 319-327 (1968)

54o) JONES, H.S. — "The morphological effects of parathyroid extract upon the developing skeleton of the embryonic chick" Am.J.Anat. 127, 89-1oo (197o)

541) KEMPER, F. — "Thalidomide and congenital abnormalities" The Lancet II, 836 (1962)

542) KING, D.W. "The effect of heavy metals on chick embryonic development - copper sulphate" Proc.Nat.Sci.Council 1o, 89-1o2 (1977)

543) KURY, G., CRAIG, J.M. "Congenital malformations produced in chickens by fluorinated pyrimidines" Arch.Path. 81, 166-173 (1966)

544) MARAUD, R., STOLL, R., "Etude de l'influence de substances antiandrogènes sur la différenciation sexuelle de l'embryo de Poulet" C.R.Séanc.Soc.Biol. 161, 12o-122 (1967)

545) MARAUD, R., COULAUD, H., STOLL, R. "Influence de l'oestradiol sur la régression des canaux de Müller chez l'embryon de poulet mâle" C.R.Séanc.Soc.Biol. 163, 2125-2126 (1969)

546) MARAUD, R., STOLL, R., VERGNAUD, O. "Influence des stimulines hypophysaires sur la régression des canaux de Müller de l'embryon de Poulet traité par le benzoate d'oestradiol" C.R.Séanc.Soc.Biol. 165, 568-569 (1971)

547) MARAUD, R., STOLL, R., VERGNAUD, O. "Sur le mécanisme de la régression des canaux de Müller provoquée par les oestrogènes chez l'embryon de Poulet" C.R.Séanc.Soc.Biol. 166, 862-864 (1972)

548) MARHAN, O., JELINEK, R., RYCHTER, R., REZABEK, K. "Seventeen drugs compared in embryotoxicity tests using pregnant animals and a morphogenetic system" In : "Evaluation of Embryotoxicity, Mutagenicity and Carcinogenicity Risks in New Drugs" Edit.: BENESOVA, O., RYCHTER, Z., JELINEK, R. Proc. of the 3rd Symposium on "Toxicological Testing for Safety of New Drugs" Prag, 1976, p.219-227

549) MCLAUGHLIN, J., MARLIAC, J.P., VERRETT, M.J., FITZHUGH, O.G. — "Toxicity of some food additive-chemicals as measured by the chick embryo technique" Tox.appl.Pharmacol. 7, 491 (1965)

55o) MOSCIONI, A.D., ENGEL, J.L., CASIDA, J.E. — "Knyurenine formidase inhibition as a possible mechanism for certain teratogenic effects of organophosphorus and methyl-carbamate insecticides in chicken embryos" Biochem.Pharmacol. 26, 2251-2258 (1977)

551) NARBAITZ, R., TEITELMAN, G. — "A histochemical study of sex inversion produced by estradiol in chick embryos" J.Embryol.exp.Morphol. 13 I, 45-5o (1965)

552) PIET, M., MARAUD, R., STOLL, R. — "Action tératogène de l'oestradiol et de la thyroxine sur les canaux de Müller de l'embryon de Poulet" C.R.Séanc.Soc.Biol. 156, 78-8o (1962)

553) PIET, M., STOLL, R., MARAUD, R. — "Action de la thyroxine sur l'évolution des canaux de Müller de l'embryon de Poulet traité par la testostérone" C.R.Séanc.Soc.Biol. 155, 1288-129o (1961)

554) PREDA, N., POPA, L., SENDREA, D., GALEA, V. — "Estimation de la nocivité des médicaments par le test à embryon de poulet" J.Europ.Toxicol. 7, 177-181 (1974)

555) PROCTOR, N.H., MOSCIONI, A.D., CASIDA, J.E. — "Chicken embryo NAD levels lowered by teratogenic organophosphorus and methylcarbamate insecticides" Biochem.Pharmacol. 25, 757-762 (1975)

556) ROGER, J.C., UPSHALL, D.G., CASIDA, J.E. — "Structure-activity and metabolism studies on organophosphate teratogens and their alleviating agents in developing hen eggs with special emphasis on bidrin" Biochem.Pharmacol. 18, 373-392 (1969)

557) ROGLER, J.C., PARKER, H.E., ANDREWS, F.N., CARRICK, C.W. "Effects of thiouracil and thyroxine on chick embryo development" Poult.Sci. 38, 1o27-1o32 (1959)

558) ROSENBERG, E.E. "Teratogenic effects of beta-amino-propionitrile in the chick embryo" Nature 18o, 7o6-7o7 (1957)

559) SALZGEBER, B., SALAÜN, J. "Action tératogène de la thalidomide sur l'embryon de Poulet, à différents stades du développement" C.R.Séanc.Soc.Biol. 257, 273-275 (1963)

56o) SEEGMILLER, R.E., OVERMAN, D.O., RUNNER, M.N. "Histological and fine structural changes during chondrogenesis in micromelia induced by 6-aminonicotinamide" Develop.Biol. 28, 555-572 (1972)

561) SEEGMILLER, R.E. "Time of onset and selective response of chondrogenic core of 5-day chick limb after treatment with 6-aminonicotinamide" Develop.Biol. 58, 164-173 (1977)

562) SEIFERT, J., CASIDA, J.E. "Relation of yolk sac membrane kynurenine formidase inhibition to certain teratogenic effects of organophosphorus insecticides and of carbaryl and eserine in chicken embryos" Biochem.Pharmacol. 27, 2611-2615 (1978)

563) STOCUM, D.L. "The effect of thiourea and cortisone acetate on duodenal length and diameter and on morphogenesis of duodenal villi in chick embryos" J.Morph. 118, 183-196 (1966)

564) STOLL, R., FAUCOUNAU, N., MARAUD, R., COULAUD, H. "Sur l'activité tératogène de l'acide tétra-iodothyroacetique et de la thyroxine, chez l'embryon de Poulet" C.R.Séanc.Soc.Biol. 159, 195o-1952 (1965)

565) STOLL, R., MARAUD, R., FAUCOUNAU, N., COULAUD, H.
"Influence de certaines solutions à l'égard de la strophosomie, induite par la thyroxine chez l'embryon de Poulet"
C.R.Séanc.Soc.Biol. 161, 123-126 (1967)

566) STOLL, R., FAUCOUNAU, N., MARAUD, R.
"L'action des androgènes stéroliques sur les canaux de Müller de l'embryon de Poulet"
C.R.Séanc.Soc.Biol. 166, 858-861 (1972)

567) STRITTMATTER, C.F.
"Phosphatase activities of chicken liver and duodenum: characteristics, level during development, and hydrocortisone-induced changes"
Biochim.Biophys.Acta 284, 183-195 (1972)

568) THOMPSON, J.N., HOWELL, J.M., PITT, G.A.J., HOUGHTON, C.I.
"Biological activity of retinoic acid ester in the domestic fowl : production of vitamin A deficiency in the early chick embryo"
Nature 2o5, 1oo6-1oo7 (1965)

569) VAINIO, H., HEMMINKI, K., ELOVAARA, E.
"Toxicity of styrene and styrene oxide on chick embryos"
Toxicology 8, 319-325 (1977)

57o) VERRETT, M.J., MUTCHLER, M.K., SCOTT, W.F., REYNALDO, E.F., MCLAUGHLIN, J.
"Teratogenic effects of captan and related compounds in the developing chicken embryo"
Ann.N.Y.Acad.Sci. 16o, 334-343 (1969)

571) VIDAL, A.
"Influence de la thiourée sur le développement de l'lembryon de Poulet"
Ann.Endocr. 13, 982-99o (1952)

Herrn Prof. Dr. med. F.H. KEMPER möchte ich für die freundliche Oberlassung des interessanten Themas danken.
Herrn Dr. med. M. RENHOF bin ich für seine Anregungen und Hilfe bei der Planung und Durchführung der Versuche dankbar.
Den Damen A. SCHULTE, H. SICKLER und R. MOLLER gilt mein Dank für ihre Hilfe bei der Präparation der Tiere und die Unterweisung in der Versuchstechnik mit Hühnerembryonen.

Lebenslauf

Am 26. April 1955 wurde ich als ältester Sohn des HNO-Facharztes Dr. med. Heinz Schürmeyer und seiner Ehefrau Rita, geb. Austermann, in Gelsenkirchen geboren.

Meine Kindheit verbrachte ich in Münster und Warendorf, wo ich am 06. Juni 1974 nach 13 Schuljahren am Städtischen Gymnasium Laurentianum das Abitur bestand. Zum Wintersemester 1974 immatrikulierte ich mich an der Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster für das Fach Katholische Theologie. Im folgenden Semester bekam ich den gewünschten Studienplatz für Humanmedizin in Münster zugewiesen.
Am 25. März 1977 legte ich die ärztliche Vorprüfung und am 30. April 1981 den letzten Teil der ärztlichen Prüfung (Staatsexamen) an der Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster erfolgreich ab. Am 18.05.82 erhielt ich die Approbation als Arzt. Seitdem bin ich tätig als wissenschaftlicher Mitarbeiter der klinischen Forschungsgruppe für Reproduktionsmedizin der Max-Planck-Gesellschaft an der Frauenklinik in Münster (Leiter: Prof. Dr. med. E. Nieschlag).
Seit 1979 bin ich verheiratet mit der Lehrerin Mechthild Schürmeyer, geb. Goldstein.